

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1928

THÈSE

N°

423

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Justin PAULIN

Né le 24 juin 1901 à Tunis

ÉTUDE SUR LES FORMES FILTRANTES
DE
QUELQUES BACTÉRIES
MORPHOLOGIQUEMENT CONNUES

Président : M. GOSSET, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1928

854

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1928

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Justin PAULIN

Né le 24 juin 1901 à Tunis

ÉTUDE SUR LES FORMES FILTRANTES

DE

QUELQUES BACTÉRIES

MORPHOLOGIQUEMENT CONNUES

Président : M. GOSSET, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE LOUIS ARNETTE

2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2

1928

I. — PROFESSEURS

	MM.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.	VILLARET.
Anatomie	ROUVIERE.
Anatomie médecine-chirurgicale	CUNEO.
Physiologie	ROGER.
Physique médicale	STROHL.
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	Marcel LABBÉ
Pathologie médicale	SICARD.
Pathologie chirurgicale	LECENE.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène.	N...
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER.
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
	CARNOT.
Clinique médicale.	BEZANÇON.
	ACHARD.
	WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance.	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TESSIER.
	DELBET.
Clinique chirurgicale.	HARTMANN.
	LEJARS.
Clinique ophtalmologique	GOSSET.
Clinique urologique	TERRIEN.
	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE.
	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale.	DUVAL.
Clinique propédeutique.	SERGENT.
Professeur sans chaire.	BRANCA.
Clinique de la tuberculose	Léon BERNARD.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ALAJOUANINE Neurologie et Psychiatrie.
 ABRAMI . . . Pathologie médicale.
 AUBERTIN . . . Pathologie médicale.
 BASSET . . . Pathologie chirurgicale.
 BAUDOUIN . . . Pathologie médicale.
 BINET . . . Physiologie.
 BLANCHETIÈRE . . . Chimie biologique.
 BROCC . . . Pathologie chirurgicale.
 BRULÉ . . . Pathologie médicale.
 CADENAT . . . Pathologie chirurgicale.
 CHABROL . . . Pathologie médicale.
 CHIRAY . . . } Pathologie médicale.
 CLERC . . . }
 DEBRÉ . . . Hygiène.
 DOGNON . . . Physique.
 DONZELOT . . . Pathologie médicale.
 DUVOIR . . . Médecine légale.
 ECALLE . . . Obstétrique.
 FIESSINGER . . . Pathologie médicale.
 GARNIER . . . Pathologie expérimentale.
 GATELLIER . . . Pathologie chirurgicale.
 HARVIER . . . Pathologie médicale.
 HEITZ-BOYER Urologie.
 HOVELACQUE Anatomie.

MM.

HUTINEL . . . Pathologie médicale.
 JOYEUX . . . Parasitologie.
 LABBÉ (Henri). Chimie biologique.
 LARDENNOIS. Pathologie chirurgicale.
 LEMAITRE . . . Oto-rhino-laryngologie.
 LEROUX . . . Anatomie pathologique
 LEVY-SOLAL. Obstétrique.
 LHERMITTE . . . Pathologie mentale.
 LIAN . . . Pathologie médicale.
 MATHIEU . . . Pathologie chirurgicale.
 METZGER . . . Obstétrique.
 MONDOR . . . Pathologie chirurgicale
 MOURE . . . Pathologie chirurgicale
 MULON . . . Histologie.
 PHILIBERT . . . Bactériologie
 QUENU . . . Pathologie chirurgicale
 RICHTER Fils . . . Physiologie.
 SÉZARY . . . Dermatologie et syphiligraphie.
 VALLERY-RA-
 DOT (Pasteur). Pathologie médicale.
 VAUDESCAL . . . Obstétrique.
 VELTER . . . Ophtalmologie.
 VERNE . . . Histologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

BUSQUET . . . Pharmacologie.
 GUÉNIOT . . . Obstétrique.
 LEQUEUX . . . Obstétrique
 NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.

MM.

REFFERER . . . Histologie.
 TANON . . . Pathologie médicale.
 ZIMMERN . . . Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.		MM.	
ALGLAVE . . .	} Clinique chirurgicale.	GOUGEROT . . .	} Clinique médicale.
AUVRAY . . .		LERI	
CHEVASSU . . .		MOCQUOT . . .	} Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-LAVASTINE . .	Clinique médicale.	PROUST . . .	
LE LORIER . . .	Clinique obstétricale.	SCHWARTZ . . .	
LEREBoullet . . .	Clinique médicale infantile.		

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, agrégé	} Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY	
CHAILLEY-BERT	Stomatologie.
LEDoux-LEBARD	Education physique.
	Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions mises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

IN MEMORIAM

A MA GRAND MÈRE SOPHIE MACHUEL

*En souvenir de sa bonté dont notre
première enfance fut entourée.*

A MON GRAND PÈRE LOUIS MACHUEL

Officier de la Légion d'Honneur
Directeur de l'Enseignement en Tunisie
Inspecteur général Honoraire

*Dont la vie fut une longue carrière
de dévouement à la cause française.
Vir probus et Vir honestus est un
exemple pour nous.*

A MA CHÈRE MÈRE

*Dont toute la vie n'a été dirigée que
par une unique pensée : notre
bonheur.*

*En bien faible témoignage de notre
profonde affection nous lui dédions
tout ce travail qui consacre son rêve.*

A MA FAMILLE

A MON PÈRE

*Dont les conseils ne nous ont jamais
fait défaut et qui nous a permis
de réaliser le rêve de notre enfance.
En bien faible témoignage de notre
profonde reconnaissance et de notre
vive affection.*

A MA BELLE-MÈRE

*Dont l'affection et les encouragements
nous ont été précieux à la fin de
nos études.*

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GOSSET

Professeur de clinique chirurgicale
Chirurgien de la Salpêtrière
Membre de l'Académie de Médecine
Commandeur de la Légion d'Honneur

*Pour le grand honneur qu'il nous fait
nous le prions d'agréer l'expression
de notre respectueuse gratitude.*

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX DE PARIS

A MES AUTRES MAITRES

A MM. LES DOCTEURS CHARRIER, PETIT-DUTAILLIS,
SOUPAULT, chirurgiens des Hôpitaux de Paris.

AUX DOCTEURS VAUDREMER, ROUCHÉ, HAUDUROY

*Nous leur réitérons ce que nous leur
avons dit dans notre avant-propos.*

A MES MAITRES DE L'HOPITAL DE SAINT-GERMAIN

AU DOCTEUR CHERECHEVSKI
Médecin de l'Hôpital

*Qui durant notre Internat a su nous
faire profiter de sa longue expérience
des malades ; nous lui adressons l'ex-
pression de notre reconnaissance.*

AU DOCTEUR MAURICE LARGET
Chirurgien de l'Hôpital

*Notre seul regret est de n'avoir pas été
son Interne. Nous lui adressons l'assu-
rance de notre profonde affection et
nous n'oublierons jamais ce qu'il a fait
pour nous.*

AU DOCTEUR JEAN-PAUL LAMARE
Chirurgien de l'Hôpital

*Nous le remercions de ses conseils et des
sentiments qu'il nous a toujours té-
moignés.*

AU DOCTEUR MAURICE VENOT
Médecin de l'Hôpital

A MES CAMARADES D'ÉTUDES

MM. LES DOCTEURS RENÉ TERRENOIR, JEAN CAMUS,
Mlle SELIKOWITZ

A MA COUSINE, LE DOCTEUR JEANNE VERSINI

A MON COUSIN, LE DOCTEUR GEORGES MACHUEL

A MES COLLÈGUES ET AMIS
DE L'HOPITAL DE SAINT-GERMAIN

MM. LES DOCTEURS FESQUET, LE CACHEUX, BONNIER,
FOURREY, HINARD

MEIS ET AMICIS

« L'absolu est une forme de la pensée inculte ».

MONTAIGNE.

Le Savant est comme un navire sans gouvernail ;
quand il se trompe, il entraîne tous les autres
avec lui ».

Ex *Pensées arabes*, par Louis MACHUEL.

AVANT-PROPOS

Avant d'aborder le sujet qui sert de thème à notre
thèse :

Etudes sur les formes filtrantes de quelques bactéries morphologiquement connues,

Nous voulons par l'analyse même de chaque terme
qui en constitue le titre, tracer un grand schème de
notre sujet et en délimiter les confins.

Formes filtrantes... disons-nous et non virus filtrants.
Ce sont là, en effet, deux choses bien différentes que les
esprits encore mal adaptés à des notions nouvelles ont
tendance à confondre.

A l'heure actuelle, un virus filtrant est un virus invi-
sible qui traverse les bougies serrées de porcelaine et
les filtres de collodion préparés suivant une technique

bien établie, virus invisible auquel s'attachent certaines propriétés déterminées, en particulier celle de se fixer sur la cellule et de plus sur la cellule vivante, constituant ainsi non seulement un germe cytotrope (Philibert) mais un germe biotrope (Hauduroy). Ces infiniment petits, qu'il serait préférable d'appeler *infra virus* constituent, dans le domaine de l'infra visible, une catégorie de formes que ni l'œil ni l'esprit ne savent rattacher à quelque chose morphologiquement connue. Nous n'étudierons pas, par conséquent, ces virus dont l'existence ne nous est révélée que par les modifications qu'ils provoquent dans les milieux vivants sur lesquels ils se développent ou avec lesquels ils sont en contact. Nous laisserons donc complètement de côté l'étude du bactériophage. Si, au cours de cet exposé, nous sommes obligé de parler de son action lytique ce sera pour nous conformer aux directives et techniques qui ont permis aux chercheurs, en s'appuyant sur cette propriété caractéristique, de découvrir ou de mettre en évidence ces acquisitions nouvelles que constituent les formes filtrantes et invisibles des bactéries non filtrantes et visibles.

*
* *

Avant que notre activité ne se porte sur l'étude des « infra microbes » nous avons appris à connaître les bactéries visibles. Cette étude ne nous a été permise que grâce à la bienveillance de notre maître Monsieur le Professeur Gosset qui dès 1922 nous a autorisé à travailler dans ses laboratoires de bactériologie. C'est là

que sous les directives avisées et l'œil éclairé de son chef de laboratoire, le docteur Rouché, nous avons fait nos premiers pas en microbiologie. C'est là aussi que nous avons connu le docteur Vaudremer dont les idées et le rigorisme scientifique nous séduisirent dès le prime abord. C'est lui qui, depuis 1923, nous a familiarisé avec les formes filtrantes du bacille de Koch. C'est avec lui aussi que nous avons eu l'honneur de collaborer à l'établissement de sa technique vaccinale antituberculeuse.

Au Maître, éminent chirurgien, mais de plus Homme de science, dont les laboratoires constituent une des splendeurs de son service, qu'il nous soit permis de lui adresser ici le témoignage de notre respectueuse reconnaissance.

Au docteur Vaudremer, ce savant, qui par la découverte des formes filtrantes du bacille de Koch « a eu le courage de bousculer toutes les notions classiques, considérées comme intangibles, nous le remercions de la sympathie qu'il nous a toujours témoignée, des conseils qu'il n'a cessé de nous prodiguer et nous lui réitérons l'assurance de notre attachement et de notre respectueuse affection.

Au docteur Rouché, notre premier Maître, qui nous a toujours considéré en ami, qu'il veuille bien trouver, à côté de notre affectueuse sympathie, la dette de reconnaissance que nous lui devons pour nous avoir fait aimer l'étude des infiniment petits.

Enfin que le docteur Hauduroy veuille bien agréer ici l'hommage de notre gratitude pour l'amabilité qu'il nous a toujours témoignée, les conseils et l'aide qu'il n'a cessé de nous donner dans tout ce travail.

INTRODUCTION

Depuis ces dernières années, la Bactériologie voit son domaine s'agrandir de plus en plus. Alors qu'elle possédait certaines espèces microbiennes dont l'étude morphologique semblait être complète et définitive, telle le streptocoque, le staphylocoque, le bacille dysentérique, le bacille diphtérique, le bacille typhique et même le bacille de Koch... certains auteurs, par des expériences cruciales, ont montré qu'il y avait encore à découvrir sur la morphologie de chacune d'elles ; que les connaissances actuelles que nous en avons, si elles étaient exactes, ne constituaient pas un critérium et que les descriptions classiques auxquelles de grands savants avaient attaché leur nom, ne traduisaient souvent qu'un aspect au cours du développement de la bactérie.

Le point de départ de ces nouvelles recherches se trouve d'une part dans l'expérience de Fontès publiée dans les mémoires de l'Oswaldo Cruz de 1910.

Fontès dilue dans de l'eau du pus caséeux, le filtre à travers une bougie Berkefeld et inocule le liquide obtenu à un cobaye. Le cobaye inoculé ne présente pas de chancre ; au bout de quinze jours les ganglions ingui-

naux sont durs et un peu augmentés de volume. L'animal est sacrifié. Les ganglions et la rate un peu augmentés aussi ne renferment pas de bacilles mais leurs lymphocytes sont bourrés de granulations, c'est-à-dire de corpuscules chromophiles. La rate est broyée et la pulpe est inoculée à un second cobaye. Cinq mois après ce second animal est sacrifié ; il ne présente pas de tuberculose ganglionnaire mais une tuberculose pulmonaire avec des bacilles dans les poumons.

Cette expérience de Fontès n'eut pas aussitôt le retentissement qu'elle devait avoir. Si elle était vraie, un des principaux dogmes de la bactériologie s'écroulait : la filtration des liquides à travers les bougies ne constituait pas un procédé de stérilisation vis-à-vis des microbes visibles au microscope. Puisque le filtrat conservait un caractère infectieux malgré l'absence de germes visibles, il fallait en conclure qu'il en existaient d'invisibles, capables de traverser les filtres. C'est ce que Vaudremer montra dans ses travaux sur le bacille de Koch.

La seconde expérience repose sur le pouvoir lytique du bactériophage. On fait subir à un bacille l'action d'un bactériophage anti. On filtre à travers une bougie de porcelaine. Le liquide est clair : on le porte à l'étuve. Après un temps plus ou moins long on le voit se troubler. La culture qui apparaît est formée de petits grains très petits ; après une durée variable, elle peut aboutir à la restitution du bacille initial.

La véracité de ces résultats incitant les chercheurs à expérimenter sur d'autres bactéries. Leurs recherches

ne furent pas infructueuses et en même temps qu'elles ouvraient à la bactériologie des horizons nouveaux, elles introduisaient dans la pratique courante déjà ancienne, mais peu employée dans un but de recherche : la filtration et l'ultra-filtration. Ces procédés auxquels on doit les découvertes qui font l'objet de notre thèse méritent une étude spéciale.

PREMIÈRE PARTIE

FILTRES ET FILTRATION

L'emploi des filtres ne constitue pas une acquisition récente en bactériologie. Il y a plus de trois quarts de siècle qu'ils y firent leur apparition. Les premiers bactériologistes qui les utilisèrent trouvèrent en leur emploi une technique précieuse de stérilisation. A la suite des travaux de Nadault de Buffon, de Zahn, de Pasteur et Joubert, de Miquel et nombre d'autres savants, on admettait qu'une bactérie connue morphologiquement, cultivable et visible au microscope ne traversait pas les pores de la bougie. Autrement dit, on n'imaginait pas et d'ailleurs aucune expérience ne pouvait faire penser qu'en dehors de la bactérie à dimensions plus ou moins variables, répondant à des caractères biochimiques particuliers, il pouvait exister des formes invisibles rattachables à la forme connue. En un mot on ne supposait pas l'existence des formes invisibles filtrantes.

Si on savait que les filtres arrêtaient les germes visibles, on savait aussi qu'ils laissaient passer certains

germes invisibles : les virus filtrants. En 1897 Nocard et Roux, dans leur étude sur la péripneumonie des bovidés, s'adressèrent à un autre filtre à réseau plus ténu : les filtres de collodion. Différente est la conception que l'on a aujourd'hui de la filtration. A la suite de la découverte de la virulence des filtrats, des formes invisibles des bactéries visibles, des formes métacycliques de certains germes pathogènes, on peut faire remarquer sans avoir la prétention d'établir une norme que le bactériologiste ayant en sa possession ces deux sortes de filtres : bougies et sacs de collodion, s'est adressé, pour la recherche de formes filtrantes de germes connus plus particulièrement au filtre « bougie » qu'au contraire, s'il est parti de germes morphologiquement inconnus, tel un virus, il a eu recours à l'ultra-filtre dont le type est la membrane de collodion.

Cette limitation de l'emploi des filtres de collodion est regrettable ; mais quiconque a dû construire des sacs de collodion connaît la difficulté de réalisation. En n'oubliant pas que si les formes invisibles des bactéries connues filtrent, elles ultra-filtrent aussi, il est permis d'entrevoir et d'affirmer avec Hauduroy, que le jour où les expérimentateurs auront la possibilité de construire des filtres de collodion sans difficultés, ayant à leur disposition des appareils plus constants dans leur épaisseur, dans leur constitution chimique, et par suite dans le calibre de leurs pores, pouvant réduire au minimum certains phénomènes physiques qui se produisent avec les bougies, ils généraliseront leur emploi. Déjà certains chercheurs nous font entrevoir ce jour.



Si l'on étudie les historiques qui ont été faites des bougies filtrantes et sur lesquelles pour ne pas insister, nous rappelons le rapide exposé qu'en a donné Hauduroy, nous apprendrons que c'est en 1837 que Nadault de Buffon rendit pratique la filtration en créant la forme « bougie » employée encore aujourd'hui, mais que ce n'est qu'en 1884 que Chamberland inventa l'instrument dont nous nous servons : la bougie de biscuit. Entre temps on utilisait des bougies constituées soit par une matière filtrante fortement comprimée, soit par de la porcelaine non émaillée (Zahn), soit par du plâtre (Pasteur et Joubert), soit par de la porcelaine (Miquel et Gauthier). Actuellement, deux sortes de bougies sont d'un usage courant dans les laboratoires de recherches : les bougies Chamberland et les bougies Berkfeld.

Les bougies Chamberland sont faites en porcelaine dégourdie à 1200°. Les Berkfeld sont en terre d'infusoires plus poreuse que la bougie Chamberland et par conséquent filtrant plus vite mais d'un prix plus élevé. Toutes deux de forme tubulaire ayant une de leur extrémité fermée, l'autre terminée par une partie vernissée en forme de tétine.

Il existe deux types de bougies Chamberland : les grosses bougies marquées F et B ces dernières étant moins perméables que les autres. Les bougies de laboratoire sont sans embase numérotées L1, L1 *bis*, L2, L3, L4, etc... L3 correspond comme porosité à la grande bougie F, L10 égale celle de B.

Quelle que soit la bougie employée, la technique de la filtration doit répondre à certaines conditions : le nettoyage, la stérilisation, la vérification des bougies. Pour ce faire après usage les bougies sont portées à l'ébullition pendant une heure, après séchage à l'étuve à 37° pendant une journée, elles sont régénérées par chauffage au rouge blanc dans un four à moufle. A ce moment les matières grasses enfermées dans les pores sont volatilisées ; il faut procéder alors à la vérification de l'intégrité des bougies. Ceci se fait en les plongeant jusqu'à la tétine exclusivement dans une éprouvette pleine d'eau et en insufflant de l'air à l'intérieur à l'aide d'une poire en caoutchouc en liaison avec la tétine. S'il existe une fissure restée invisible, les bulles d'air s'échappent dans l'eau et il faut rejeter la bougie. Si elle est propre à l'usage, il suffit de la monter sur son appareil, et de stériliser le tout à l'autoclave.

Ces appareils sont de types bien variés. On connaît nombre de dispositifs qui sont décrits dans les traités de bactériologie. Nous exposerons ici seulement l'appareil de Martin employé à l'Institut Pasteur par le Dr Vaudremer, et celui employé par le Dr Hauduroy à la Faculté et par le Dr Rouché à la Salpêtrière.

Le dispositif Martin se compose d'une éprouvette à large section à tubulure latérale en communication avec une trompe à eau. Le bouchon de caoutchouc de l'éprouvette est traversé par un entonnoir qui conduit à une petite bougie de porcelaine placée à l'intérieur d'un tube à essais reposant au fond de l'éprouvette et maintenue dans ce tube par l'intermédiaire d'un tampon de

coton. Pour filtrer, le vide est fait dans l'éprouvette et le liquide à filtrer traverse la bougie et tombe dans le petit tube à essais qui l'entoure.

Le dispositif du Dr Hauduroy consiste en une bougie Chamberland entourée dans sa partie vernissée de coton et introduite à force dans un large tube de 4 cm. environ et de 25 cm. de long possédant une tubulure latérale haut placée en communication avec une trompe à eau après avoir toutefois pris la précaution d'interposer un appareil de sécurité pour éviter les retours d'eau (simple flacon à deux tubulures ou appareil automatique de Legroux). Le filtrat tombe au fond de l'éprouvette d'où il est facile de l'en retirer à l'aide d'une pipette à filtration. Cet appareil a l'avantage de ne pas permettre à la pression de s'élever à l'intérieur de l'éprouvette au-dessus de 10 et 15 cm. de Hg.

*
* *

La deuxième catégorie de filtres est l'ultra filtre ou sac de collodion. Ce sont de petits appareils que l'expérimentateur construit lui-même. La technique réclame un tour de main que la seule pratique permet d'acquérir. Ces conditions et le principe de la préparation reposent sur les phases de la dessiccation du collodion. Solution de nitro cellulose dans un mélange d'alcool et d'éther sulfurique, le collodion versé en couches minces à la température ordinaire, abandonne d'abord l'éther puis l'alcool plus lentement. Il forme à un moment donné une gelée assez résistante pour adopter une

forme. C'est le moment qu'il faut choisir pour fabriquer le sac.

La résistance mécanique est d'autant plus grande, qu'il y a moins d'alcool et plus de nitro-cellulose. Suivant que l'on utilise l'une ou l'autre des deux formules, on obtiendra des membranes à perméabilité différente.

	I	II
Alcool à 96° . . .	500 cc	250 cc
Ether à 65° . . .	500 cc	700 cc
Coton azotique . .	20 gr.	70 gr.

La valeur dialysante d'après Nicolle serait fonction :

- a) De la qualité du collodion ;
- b) De la manière d'opposer les couches successives ;
- c) De la qualité des couches de collodion ;
- e) Du mode de démontage du sac ;
- f) De la manière d'ajuter le sac sur son support.

Pratiquement pour fabriquer un sac de collodion, on peut opérer de la façon suivante :

Dans une large éprouvette, on met le collodion. On plonge dedans bout fermé le premier, un moule bien propre qui peut être un tube à essais à la jonction du quart supérieur et des trois quarts inférieurs duquel se trouve sur toute la circonférence une soufflure, qui vient effleurer la surface du collodion.

On attend un moment et on retire doucement. On laisse égoutter le collodion puis on renverse brusque-

ment le moule. L'ouverture est alors en bas. On souffle dessus légèrement pour évaporer l'éther. La pellicule de collodion se forme, prend consistance, et quelques instants après on peut détacher le sac formé en le tirant à la façon d'un doigt de gant, opération facilitée par le diamètre légèrement supérieur de ce qui sera l'orifice du sac. Celui-ci est monté sur un mandrin de même diamètre que le moule et y est maintenu par une cerclure au fil. Le sac est mis dans l'eau afin d'éviter la dessiccation auquel cas il serait inapte à la filtration. Les sacs sont stérilisés après dénitrification, procédé qui consiste à remplir avec une solution de sulfhydrate d'ammoniaque à 25 %, à les porter au bain marie à 50° pendant 3/4 d'heure, à les laver avec une solution d'ammoniaque à 10 %, puis à l'eau distillée et à les laisser sécher. Le sac est monté sur le dispositif adopté et porté à l'autoclave où il est stérilisé par le procédé de d'Hérelle, la difficulté de la fabrication consiste à séparer la membrane de collodion du tube de verre sur lequel il a été moulé. Pour remédier à ces inconvénients MM. A. Lumière et Jean Chevrotier se sont servis de mandrin soluble en sucre qu'il suffit de faire dissoudre pour libérer le sac.

Tel est rapidement tracé le principe et la technique de la fabrication des ultra-filtres.

*
* *

Sans vouloir entrer dans une étude physico-chimique de la filtration, nous devons exposer les conditions qui

doivent présider à une bonne filtration. Legrou, dans son *Cours de l'Institut Pasteur* 1927 les a nettement établies. Il faut :

a) Tenir compte du rapport entre le volume de la bougie et du volume du liquide à filtrer ;

b) Laisser le liquide mouiller les parois de la bougie avant de filtrer ;

c) N'opérer que sous faible pression (33 ou 40 cm. de Hg) pression qui doit être d'autant plus faible que le liquide passe plus facilement ;

d) Que la durée de la filtration soit courte ;

e) Que la durée de la filtration varie suivant la température du liquide, la dépression, l'état physique ou chimique du liquide et même électrique (rôle du P. H.) l'alcalinité ou l'acidité arrête ou accélère la filtration. Pour Kramer, il faut aussi tenir compte de la charge électrique des parois ;

f) Vérifier après l'opération la stérilité du filtrat par ensemencement dans un tube de bouillon ;

g) Conserver le liquide filtré dans des tubes scellés.

DEUXIÈME PARTIE

FILTRATION DE DIVERSES BACTÉRIES

Parmi les germes pathogènes que nous nous proposons d'étudier à morphologie définie, capables de fournir des formes filtrantes, certains nous ont d'abord été connus par leur caractère d'invisibilité et les modifications qu'ils pouvaient provoquer, d'autres au contraire suffisamment gros pour être retenus par les bougies et ne pas être retrouvés à l'examen direct des lamés de filtrats, n'ont manifesté leur ultra-filtration que secondairement. En d'autres termes, tandis que les premiers appartenaient primitivement au domaine des virus filtrants, et qu'ils sont entrés secondairement dans celui des infra virus, les seconds classés parmi les bactéries non filtrantes et visibles ont montré qu'ils pouvaient, dans certaines conditions, traverser les filtres et par bien des points communs se ranger à côté des infra virus. Partant de cette donnée, nous avons classé dans un même chapitre les agents pathogènes de la péripneumonie des bovidés, les pneumosintes et les spirochètes

de la fièvre récurrente ainsi que le typhus exanthématique. Un autre chapitre comprendra le streptocoque, le bacille typhique, le bacille dysentérique, le bacille diphtérique.

Un troisième chapitre enfermera à lui seul le bacille tuberculeux.

Enfin, dans ce sujet encore trop nouveau, nos conclusions qui ne peuvent être des conclusions définitives au point de vue scientifique, seront adjointes à des considérations générales sur les formes filtrantes microbiennes et montreront leur portée dans le domaine biologique, le domaine clinique et enfin le domaine philosophique.

I. — PÉRIPNEUMONIE DES BOVIDÉS

Pendant longtemps la recherche du microbe de la péripneumonie des bovidés est restée sans résultats. C'est en 1898 que Nocard et Roux le découvrirent en empruntant des techniques spéciales. En 1910 Bordet puis Borrel et Dujardin-Baumetz contribuèrent à montrer que le microbe de la péripneumonie était visible, cultivable et susceptible de traverser les filtres.

La technique employée par Nocard et Roux pour montrer qu'il s'agissait d'un virus filtrant est celle indiquée par Metchnikoff, Roux et Salimbeni. Elle consiste à préparer de petits sacs de collodion à parois très minces, à les remplir de bouillon stérile et à les ensemen-
cer à l'aide du liquide virulent.

Ces petits sacs sont introduits dans la cavité périto-

néale d'un jeune lapin. Ils sont laissés en place pendant une quinzaine de jours, puis retirés. On constate alors que le liquide initialement clair est devenu opalescent, qu'à l'examen direct au microscope on ne trouve aucune forme microbienne; que l'ensemencement sur les milieux usuels reste négatif, mais que l'ensemencement sur sacs témoins stériles placés en même temps dans la cavité, péritonéale d'un autre lapin reproduisait un trouble dans le bouillon ensemencé; que le liquide cultural par inoculation à la vache produisait au point d'injection une large tuméfaction sans entraîner la mort; que ce liquide était vaccinant.

L'examen au microscope du trouble du bouillon montrait de petits points très réfringents et très mobiles. Nocard et Roux pensèrent que le développement des germes à l'intérieur du sac était dû à certaines substances venues de la cavité péritonéale du lapin. Ils ajoutèrent du bouillon de bœuf au bouillon Martin et dans ce milieu, après ensemencement et séjour à l'étuve à 37° pendant deux ou trois jours, ils observèrent un trouble. Les milieux solides à la gélose ordinaire imbibés de sérum de bœuf stérile donnèrent, selon Dujardin-Beaumetz : « des colonies microbiennes tellement fines qu'on ne peut les distinguer qu'à la loupe et à jour fri-sant ». Après quelques jours on obtient une forme caractéristique : « au centre on a une zone bien délimitée, ronde, mesurant 1 mm. 2 de diamètre, granuleuse, de couleur brunâtre se présentant sous la forme d'un mame-lon opaque au milieu de la colonie ».

On possédait dès lors la culture du virus de la péri-

pneumonie mais il n'était pas possible d'en donner une morphologie.

Ces cultures étaient filtrantes sur bougie Chamberland F et le filtrat capable de reproduire une culture. Ce n'est qu'à la suite des travaux de Bordet, Borrel, Dujardin-Beaumetz et Jouan, qu'on arriva à savoir que le microbe de la péripneumonie des bovidés, germe invisible mais cultivable et filtrant était essentiellement polymorphe et qu'il présentait non seulement des formes pseudo-vibrioniennes comme l'avait montré Bordet, mais qu'il pouvait être encore diplocoque, tétragène, morula, ou filaments chaînettes noyés dans une gangue visqueuse.

Ce microbe individualisé fut appelé l'*Asterococcus mycoïdes*.

PNEUMOSINTES

Les observations faites au cours de l'épidémie de grippe de 1919-1920 ont achevé de démontrer que le bacille de Pfeiffer n'est pas le microbe spécifique de la grippe. Les recherches de Nicolle et de Lebailly, bientôt confirmées par un grand nombre de bactériologistes (Dujaric de la Rivière, Kruse, Selter, Leschke) ont montré que le virus grippal est capable de traverser les filtres.

Les filtrats des malades atteints d'influenza ont permis, entre les mains de Nicolle et Lebailly, d'une part, de reproduire la grippe chez l'homme, entre les mains de Cunha, Magalhães, Fonseca, d'autre part, de la reproduire chez le singe. Avec ces auteurs le caractère de

virus filtrant du germe pathogène de l'influenza était mis en évidence. Ce n'est qu'à l'occasion des récurrences américaines de 1922 et 1923 que les savants américains Olitsky et Gates, après des recherches intéressantes poursuivies au Rockefeller Institut établirent la visibilité du micro-organisme qu'ils nommèrent « Pneumosintes ».

Ce nouveau germe, visible, cultivable et filtrable entra dans ce groupe qu'Hauduroy nomme les « infra virus ». Dès le début de leurs recherches Olitsky et Gates essayèrent de reproduire une grippe expérimentale. Leurs premières expériences furent réalisées avec des sécrétions nasales non filtrées de malades atteints de grippe non compliquée. Le singe fut choisi pour ces inoculations mais la coexistence de lésions pulmonaires spontanées tuberculeuses, leur fit abandonner cet animal. Ils s'adressèrent au lapin qui leur fournit des résultats plus démonstratifs. L'inoculation intra-pulmonaire par voie trachéale de produits d'un lavage naso-pharyngé, détermina des symptômes caractéristiques, comparables à ceux décrits chez l'homme : leucopénie ; œdème intra-alvéolaire avec zone d'emphysème ; taches hémorragiques ; lésions vasculaires, sérosité abondante. Au surplus il était possible de découvrir des germes à l'examen microscopique ou par cultures aérobie ou anaérobie des extraits de poumon atteint. Ces extraits de tissu pulmonaire, peuvent, par voie infra-trachéale, contaminer des animaux sains. La persistance de l'action pathogène, malgré la dilution répétée du matériel infectieux original amenèrent les Américains aux con-

clusions de Nicolle et de Lebaillly : l'agent pathogène de la grippe est un virus filtrant. Les sécrétions pharyngiennes grippales furent filtrées sur Berkfeld et l'inoculation intra-trachéale reproduisit les manifestations anatomo cliniques typiques de la grippe expérimentale. Ce premier point acquis, Olitzky et Gates essayèrent la culture du virus.

Dans une première série d'expériences sur les milieux usuels leurs efforts furent vains. Ils s'adressèrent alors aux méthodes instituées par Noguchi pour la culture des spirochètes et utilisèrent le milieu Smith Noguchi essentiellement constitué par de l'aciste ou du sérum dilué, additionné d'un fragment d'organe frais, stérile, habituellement rein de lapin. La surface de ce milieu est recouverte d'une couche d'huile de vaseline constituant un milieu anaérobie. Le prélèvement fait suivant l'exécution d'une technique bien définie et que Boez rapporte dans les *Annales de l'Institut Pasteur* de 1925, est filtré à travers une bougie Berkfeld, sous une pression de trente centimètres etensemencé au contact du fragment de rein. Dans ces conditions les auteurs américains observèrent la présence de très petits bacilles, presque granulaires, ayant $0\mu 15$ à $0,3$ de long, se colorant difficilement par les couleurs basiques d'aniline et ne présentant pas d'affinité pour le gram. Les cultures initiales d'abord peu abondantes, le devinrent par repiquages successifs. Ces cultures, inoculées à l'animal, déterminent une maladie grippale expérimentale et une immunité vis-à-vis d'une inoculation de virus non filtré.

Ces cultures, comme celles des autres germes qui font

l'objet de notre thèse, sont filtrables. Les filtrats inoculés au lapin reproduisent les mêmes caractères anatomo-cliniques que les sécrétions pharyngées.

Autres bactéries des voies respiratoires

Au cours de leurs recherches Olitsky et Gates ont pu isoler d'autres organismes visibles et filtrants, anaérobies des voies respiratoires de sujets atteints d'influenza ou d'affections respiratoires légères. Ces différents germes ont été groupés par les Américains en quatre groupes dont nous leur empruntons la description.

Groupe 1. — Petit vibron très mobile de $0\ \mu\ 5$ à $0,2$ de long sur $0\ \mu\ 15$ à $0,2$ de large, très incurvé, présentant souvent une coloration polaire. Sur plaque de gélose au sang, dans des conditions d'anaérobiose, colonies microscopiques convexes avec une collerette. Le milieu n'est pas décoloré. Ces microbes forment des émulsions auto-agglutinables dans l'eau physiologique. Le sérum préparé avec les cultures n'agglutine pas le Pneumosintes. Ce germe a été trouvé dans de nombreux cas d'influenza et chez des sujets normaux.

Groupe 1a — Aspect morphologique de *Bacillus pneumosintes* mais un peu plus allongé ; immobile cultivé dans un milieu liquide et forme sur milieu solide des colonies un peu plus acuminées que le *B. Pneumosintes*. Il réduit l'hémoglobine de la gélose au sang.

Groupe II. — Petit bacille ayant l'aspect du *B. Pneumosintes* mais s'en différenciant par le pléomorphisme

des formes culturales. Ne cultive pas dans les milieux liquides, mais donne sur plaques de gélose au sang de très petites colonies. Non spontanément agglutinable et non agglutiné par le sérum anti-pneumosintes.

Isolé des amygdales.

Groupe III. — Petit vibron de longueur variable. Ne cultivant pas en milieu liquide. Donne sur gélose au sang des colonies brunâtres caractéristiques, formées d'un cône reposant sur un plateau entouré d'un bord irrégulier. Les émulsions flocculent dans le sérum normal de lapin.

III. — TYPHUS EXANTHEMATIQUE

La nature spécifique du typhus exantématique est aujourd'hui reconnue par tous, mais l'unanimité n'est plus réalisée quand il s'agit de se prononcer sur la nature exacte du virus.

Plusieurs groupes de travaux ont assigné ces dernières années des agents différents dans la pathogénie du typhus.

En Amérique Da Rocha Lima, reprenant les travaux de Rickett et Wilder publiés en 1910, veut lui reconnaître comme agent causal un germe parfaitement visible et déterminé : la *Rickettsia Prowazeki*.

La *Rickettsia Prowazeki* se présente sous la forme de bâtonnets en forme d'haltères ou de biscuits, se colorant à leurs deux extrémités avec une zone claire intermédiaire. Leur dimension varie entre $0\mu 7$ et $1\mu 5$ ou 3μ de

long et 0,4 de largeur, se groupant souvent en chaînettes. Elles se colorent aisément par la fuschine phéniquée de Ziehl, le Giemsa. Ces micro-organismes sont incultivables sur les milieux usuels. Leur caractéristique est de se rencontrer dans les cellules endothéliales ou épithéliales, d'où nécessité de les rechercher sur coupes et non sur lames.

Les savants qui admettent le rôle de *Rickettsia* Pr. (Wolbach, Todd, Palfrey, etc...) étayent leurs arguments sur les faits suivants :

Un pou ne contracte une infection pour la *Rickettsia* que si on le fait parasiter un malade atteint de typhus exanthématique.

— La *Rickettsia* se rencontre dans les tissus de l'homme et du cobaye infectés.

— Seuls les poux contenant des *Rickettsiæ* sont capables de transmettre le typhus exanthématique. Un poumon infecté ne le transmet pas.

Ces faits vérifiés par maints auteurs ne permettent pas de refuser à *Rickettsia* Pro. un rôle indéniable dans la pathogénie du typhus exanthématique.

Mais à côté de ce germe qui semble spécifique pour certains, Weil et Félix ont isolé de l'urine de typhiques une souche de *Bacillus Proteus* qu'ils ont baptisé *Proteus* X 19. Ce bacille a été par la suite retrouvé par Diems, Wolff, Collignon, Fejgin, etc., sous sa forme initiale *Proteus* X 19 ou sous une forme très voisine : *Proteus* O. X. 19 ou *Proteus* H. X. 19. Ils l'isolèrent du sang des typhiques ou de leurs selles.

Une des propriétés caractéristiques de ce *Proteus* X 19, est d'être agglutiné par le sérum des typhiques même à des dilutions très élevées.

En dehors de la réalité de cette agglutination qui ne pouvait être mise en doute, contre la conception de Weil, Félix, Friedberger, qui voulaient faire de ce microbe l'agent spécifique du typhus exanthématique, nombre de savants s'élevèrent et montrèrent que le rôle de *Proteus* ne pouvait pas être admis dans cette pathogénie car :

— La présence de *Proteus* X 19 est inconstante dans le sang ou les urines des typhiques.

— Les inoculations de ce microbe ne sont pas vaccinales contre le typhus expérimental, et inversement le cobaye guéri d'un typhus expérimental et vacciné par ce fait contre une nouvelle atteinte peut succomber à une infection par *Proteus* X 19.

— Le *Proteus* X 19 n'est pas le seul microbe agglutinable par le sang des typhiques.

La question restait donc en suspens jusqu'à ces dernières années et se résumait ainsi : le typhus exanthématique est une maladie à virus filtrant (Nicolle) transmise par le pou et ayant pour point de départ *Rickettsiæ* de l'intestin de l'insecte et semblant avoir pour point d'arrivée dans le sang le *Proteus* X 19.

La question a rebondi avec l'ensemble des faits expérimentaux apportés par Mlle Fejgin depuis 1923 et qui tendent à confirmer, comme le dit le Professeur

Coutière, qu'à l'instar du conte tragique de Kipling, « les trois ne font qu'un », opinion qui, du reste, avait déjà été soutenue par Beinl en 1924 en ces termes : « Certains éléments microbiens du typhus exanthématique passent de leur forme submicroscopique ou microscopique, mal colorables et doués d'un pouvoir pathogène spécifique, à la forme d'une bactérie de dimensions plus grandes facilement colorable résistante et dépourvue de virulence spécifique ».

Dans une première communication faite à la Société de Biologie polonaise en décembre 1923, Mlle Fejgin relate qu'elle a réussi à isoler des organes des cobayes infectés par du virus exanthématique 7 souches microbiennes dont une est O. X. 19, 2 sont H. X. 19 et les autres appartenant par leurs propriétés sérologiques au *Proteus* X. 19 et se rapprochant par leur caractère végétatif surtout du H. X. 19 semblent être des formes modifiées du H. X. 19.

Des cobayes infectés auparavant avec du virus de passage du typhus exanthématique étant réfractaires aux inoculations de ces microbes retirés uniquement d'animaux atteints de typhus exanthématique. Mademoiselle Fejgin se crut autorisée à voir une parenté étroite entre ces espèces microbiennes qu'elle avait isolées et l'agent infectieux du typhus exanthématique.

Pour vérifier cette hypothèse cette expérimentatrice partit de données différentes.

Ayant obtenu un principe lytique de bactériophage anti H. X. 19 elle étudia les modifications qu'il provoquait sur une culture de H. X. 19. Le filtrat transpa-

rent et stérile se troubla après 2 ou 3 jours. L'ensemencement de ce filtrat sur gélose ordinaire inclinée « donna plusieurs sortes de souches ne présentant que des différences minimes ».

L'auteur obtint donc *in vitro* dans cette seconde série d'expériences de nouvelles souches issues de variations de Proteus X 19 sous l'influence du bactériophage anti H. X. 19. Il convenait dès lors d'établir les liens qui unissaient d'une part les souches isolées *in vitro* par l'action de Proteus anti H. X. 19 et celles isolées d'autre part *in vivo* du Proteus H. X. 19.

Dans ce but Mlle Fejgin « fit agglutiner les formes modifiées *in vitro* du Proteus H. X. 19 par les sérums de lapins immunisés avec des souches modifiées du Proteus H. X. 19 obtenues *in vitro* et celles modifiées *in vitro* par les sérums de lapins immunisés avec les souches isolées *in vivo*. Dans les deux cas la réaction positive et l'épreuve de Castellani permirent de constater une identité presque complète des souches obtenues *in vitro* et *in vivo* ».

Ces formes modifiées étaient-elles virulentes? Pour ce faire, des cobayes furent inoculés par voie intra-péritonéale à l'aide de bactériophage anti H. X. 19. On vit alors entre 6 et 10 jours l'animal présenter de la fièvre pendant un temps variant entre 4 et 7 jours et une défervescence en lysis pendant les jours suivants. Le cobaye contractait donc une maladie qui ressemblait à celle décrite par Nicolle et obtenue par injections de virus typhique à l'animal.

Ces inoculations étaient-elles immunisantes ? En

d'autres termes « les animaux inoculés avec le bactériophage anti *Proteus* sont ils encore sensibles à l'inoculation de virus typhique et inversement ? Y a-t-il immunité croisée ? » Les expériences faites sur une grande échelle montrent qu'il semble en être ainsi.

L'inoculation du virus typhique rend insensibles les cobayes à l'inoculation du bactériophage anti *Proteus* X 19, celle du bactériophage anti X 19 les rend insensibles le plus souvent à l'inoculation du virus typhique. Pour cette vérification Mlle Fejgin partit de l'intestin des poux infectés par voie rectale avec la forme filtrante de H. X. 19, inocula ces intestins aux cobayes neufs et parvint à leur conférer un typhus expérimental. Il lui fut possible d'isoler en outre des organes de ces animaux infectés une bactérie appartenant au groupe du *Proteus* X. 19 et de conférer aux cobayes une certaine immunité contre le virus de passage du typhus exanthématique.

De ces différents travaux il apparaît donc que l'on pourra créer un typhus expérimental soit en partant d'un bactériophage anti *Proteus* X. 19, soit en employant un *Proteus* X 19 ou ses modifications, issu d'un typhus spontané.

Mais comment concilier ces faits avec ceux qui mettent en évidence le rôle de *Rickettsia Prowazeki* comme agent du typhus ? Existe-t-il des relations de parenté entre *Rickettsia* et *Proteus* X. 19 et ses formes modifiées ?

Kuczinski d'une part, Mlle Fejgin d'autre part, ont réussi à cultiver *Rickettsia Pro.* restée incultivable jusqu'à ce jour, et à obtenir un *Proteus* X 19 de cette culture des poux contenant les *Rickettsiæ*,

Dans ce but les intestins sont prélevés stérilement et ensemencés sur milieu liquide. Repris sur milieux solides en gelose inclinée, on obtient après quelques jours des cultures qui par leurs propriétés biochimiques et sérologiques, sont identiques à celles obtenues de *Proteus* X. 19 et en particulier de la forme H. X. 19,

Le passage de *Rickettsia* à *Proteus* X 19 était réalisé. Kuczinski parvint au même résultat en isolant du cerveau de cobayes infectés par le virus exanthématique de passage des souches microbiennes qui au point de vue sérologique, agglutination ou pouvoir antigène sont très proches de *Proteus* de X. 19 et qui par leurs caractères végétatifs et morphologiques, ressemblent à *Rickettsia*, d'où le nom de *Proteus Rickettsia* que Kuczinski donna à ces souches.

Tout récemment L. Anigstem et Amzel partant pour leurs recherches de cultures obtenues de trois sources : sang de malades atteints de typhus exanthématique, poux infectés artificiellement par *Rickettsia*, cobayes contaminés par le virus de passage, montreront aussi que ces souches avaient des liens étroits avec *Rickettsia* Provazeki.

— Les formes filtrantes du *Proteus* X 19 se rencontrent-elles dans le typhus exanthématique ?

Pour répondre à cette question Mlle Fejgin a essayé d'obtenir des bactéries visibles en partant de formes bactériennes filtrantes et invisibles au microscope.

Dans ce but, les cerveaux de cobayes infectés avec le virus de passage, sont prélevés stérilement, broyés, émulsionnés dans du bouillon ordinaire et filtrés. L'en-

semencement donne des souches bactériennes du groupe du *Proteus* X. 19 et dont Mlle Feigin a obtenu des microphotographies ?

Il est donc permis d'admettre que dans le typhus exanthématique humain, *Proteus* X. 19 existe aussi sous la forme invisible et filtrante.

CONCLUSIONS. — Les conclusions générales qui se dégagent de tous ces travaux récents sur la bactériologie du typhus exanthématique sont :

1) Qu'il est possible de passer de *Rickettsia* Prowazeki au *Proteus* X. 19 ;

2) Qu'il est possible de reproduire un typhus expérimental en partant de *Proteus* X. 19 lysé par le bactériophage sans le secours du virus typhique d'origine humaine ou des *Rickettsiæ* ;

3) Qu'il est possible d'établir que *Proteus* et *Rickettsia* sont deux germes d'aspect différent mais n'en formant qu'un ;

4) Qu'il est possible avec Hauduroy de poser l'hypothèse suivante : on peut, semble-t-il, considérer *Rickettsia* comme une forme filtrante de *Proteus* X. 19 ;

5) Qu'il est possible d'envisager un cycle évolutif du germe du typhus exanthématique ayant pour point de départ la *Rickettsia*, forme filtrante à la limite de visibilité ; une forme intermédiaire invisible et filtrante répondant à la théorie de Nicolle ; un aboutissant : le *Proteus* X. 19 cultivable et visible.

6) Qu'il est possible de comparer ce cycle à ceux déjà établis pour d'autres germes tels les spirochètes et le bacille de Koch.

IV. — SPIROCHÊTES

Le sang ou les tumeurs de malades atteints d'infections provoquées par des spirochètes ne montrent pas toujours l'agent causal. Il existe des périodes au cours de la maladie pendant lesquelles ces microorganismes sont totalement introuvables. Cette phase d'invisibilité au cours de la vie des spirochètes a été mise en évidence pour la première fois en 1913 par Nicolle, Blaisot et Conseil. Depuis ces auteurs, la liste des spirochètes présentant des phases d'invisibilité au cours de leur développement s'est allongée ; nous n'en étudierons qu'un certain nombre.

Spirochètes de la fièvre récurrente à poux

Charles Nicolle, Blaisot et Conseil ont, au cours d'une épidémie tunisienne de fièvre récurrente à poux, constaté la disparition rapide, puis la réapparition lointaine des spirilles dans le corps de ces animaux.

Le protocole expérimental consiste à partir de poux ayant parasité un homme ou un singe malade. Ecrasés et examinés aussitôt à l'ultra-microscope, ces poux se montrent tous remplis de spirilles. Après quelques minutes, les organismes spirallés ralentissent leur mouvement puis se figent et disparaissent pour être totalement

invisibles après 24 heures, tant dans le sang du poux que dans son estomac. Mais, disent les auteurs, « Malgré cette disparition évidente, les spirilles persistent sous forme inconnue et invisible, car en continuant les observations un temps plus long, on les voit réapparaître au douzième jour ». Leur nombre est alors considérable et leur aspect typique, leur virulence est très grande. Ils permirent à Nicolle et à ses collaborateurs de reproduire une fièvre récurrente expérimentale. Les inoculations permirent de constater que les poux écrasés se montrent surtout virulents avant la réapparition des spirilles, c'est-à-dire pendant la phase d'invisibilité du microorganisme où l'on ne constate pas même « de granules » pouvant les représenter. Et l'on est obligé d'admettre alors une phase invisible au cours de laquelle le caractère virulent est particulièrement prononcé.

Spirochètes de la fièvre récurrente à tiques (*treponema duttoni*)

Ce qui se passe pour *treponema recurrentis* est vrai aussi pour *treponema duttoni*. La plupart des auteurs reconnaissent à cet agent l'existence d'un stade invisible indépendant des « granules ». Sir Leishmann a le premier (1909) vu la disparition des spirilles dans le sang et les organes du tique puis sa réapparition au dixième jour sous un aspect différent du type ordinaire à condition toutefois que la température voisine de 28°.

Ces formes que Brumpt nomme métacycliques sont plus grêles, plus petites, plus faiblement colorables,

leurs tours de spires sont plus irréguliers et beaucoup plus mobiles que ceux des formes sanguicoles.

D'où sont issues ces formes ? Deux théories se heurtent dans leur genèse.

Sir Leishmann voit leur origine dans les « granules » que l'on observe dans les tubes de Malpighi ou dans les cellules génitales de l'*ornithodorus*, granules qui proviendraient eux-mêmes de la dégénérescence de spirochètes.

Pour d'autres, en particulier pour Marchoux et Couvy, Wolbach, Brumpt, ces formes proviendraient non pas de ces granules visibles et que Marchoux et Couvy ont pu retrouver chez des poux non affectés par le spirochète, mais de granules ou de germes invisibles.

Spirochètes de la fièvre jaune

Jusqu'en 1919, on savait du spirochète de la fièvre jaune qu'il pouvait traverser les filtres, mais à cette date, Noguchi communiqua qu'il avait pu cultiver l'agent véritable de la fièvre jaune. Ce spirochète que l'auteur appela « *Leptospira ictéroides* » filtre à travers les Berkefeld et il semble bien que dans son évolution il y ait une phase granulaire invisible.

Spirochètes des oreillons

Yves Kermorgant a pu isoler et cultiver deux spirochètes pathogènes pour l'homme, l'un spécifique des oreillons, l'autre spirochète pulmonaire ayant provoqué un syndrome d'hémoptyxies à répétition. L'examen

des cultures obtenues a été réalisé sur fond noir et a permis de suivre le mode de formation des granules.

Le processus est le suivant : un spirochète arrivé à un certain stade de son développement s'étire et se segmente longitudinalement en deux organismes de taille égale. Le segment étiré constitue le cil du spirochète. Parfois les spires du parasite arrivé à son stade de division se séparent, parfois encore le cil se détache du corps qui s'étire à nouveau pour redonner un cil.

On peut remarquer également des spirochètes porteurs à leurs extrémités de granules reliés au corps du spirochète par un cil.

L'examen des cultures montre également des granules ciliés libres.

Ils sont capables de traverser les bougies Chamberland L 2 et L 3.

Kermorgant a pu démontrer expérimentalement l'infiltrabilité de ces granules au cours de ses recherches sur l'étiologie des oreillons.

Pour ce faire, l'auteur inocule une culture filtrée et une culture non filtrée à des lapins. Ces animaux contractent tant avec l'un qu'avec l'autre de ces matériaux une orchite ourlienne. Kermorgant donne une autre preuve de la nature spirochétienne de ces granules. La présence d'une trace de bactérie favorisante est nécessaire pour permettre le développement du spirochète des oreillons dans les milieux de culture. Celui-ci ne se développe qu'après adjonction à l'ensemencement des filtrats d'une trace de culture bactérienne préalablement vieillie.

Autres spirochètes

D'autres auteurs ont étudié la filtrabilité et la formation de granules filtrants chez les spirochètes. Bust Wolbach qui s'est particulièrement occupé de cette question a pu en trouver un certain nombre qui traversent les bougies, en particulier *Sp. elusa* et *Sp. biflexa*.

Salimbeni, Kermorgant et Garcin ont démontré aussi l'existence de ces granules pour le parasite du sôdoku, affection humaine due à la pénétration dans l'organisme d'un spirochète transmis généralement à l'homme par la morsure des rongeurs.

Ainsi donc la notion du granule spirochètien, capable de traverser les bougies de porcelaine, peut apporter à l'étude des spirochètes, des bases nouvelles. Elle ne fait que confirmer et agrandir le cercle des formes métacycliques de Brumpt. Nous verrons dans la conclusion générale de ce travail l'intérêt considérable que ces nouvelles acquisitions peuvent présenter dans la solution de quelques problèmes de pathogénie générale des affections spirillaires, la genèse de certaines de leurs déterminations cliniques et peut-être aussi la solution des problèmes de l'hérédité.

CHAPITRE II

STREPTOCOQUE

En 1926, S. Ramsine à la station biologique de l'Etat Chabatz en Yougoslavie a été frappé du trouble qu'il vit se produire au sein d'une toxine issue de streptocoques hémolytiques de scarlatine souche « Dochez » et de quelques streptocoques autochtones isolés de la gorge de scarlatineux et servant à la vaccination préventive contre la scarlatine. Voici les conditions dans lesquelles ce produit se trouble.

Après 24 heures passées à l'étuve, le bouillon contenant la toxine reste généralement liquide et le microscope ne décèle aucun élément, mais, après 3 ou 4 semaines malgré les contrôles de stérilité restés négatifs, ces tubes mis à la température de 16 à 18° montrent au fond du flacon, soit un dépôt soit un petit amas blanchâtre floconneux à contours indéterminés. Ce trouble apparaît plus rapidement à l'étuve. Ramsine le rapprocha de celui signalé par Hauduroy dans ses études sur les formes filtrantes des bactéries et étudia le dépôt qui se produisit dans ces tubes de toxines.

Au microscope l'amas flottant à l'aspect du mycelium Gram négatif « dans lequel sont inclus des grains de deux sortes : les uns grands, Gram positif ; les autres petits, Gram négatif ».

Ramsine ensemença alors ces toxines sur milieu sucré préconisé par Hauduroy pour la culture des formes filtrantes des bactéries et observa que l'ensemencement d'une toxine avec mycelium et d'une toxine sans mycelium en bouillon sucré montre au bout de 2 jours l'apparition d'un trouble du bouillon ; que ce trouble dans le liquide où a été ensemencé la toxine avec mycelium montre au microscope des aspects polymorphes, des fragments de mycelium, Gram négatif, des formes sporifères, des formes rappelant des streptocoques, celles-ci incluses dans une masse muqueuse, enfin des grains libres de différentes dimensions. Le liquide où a été ensemencé la toxine sans mycelium montre des grains « des spores » de grosseur variable, soit en amas comme les staphylocoques, soit en chaînettes.

Cherchant le pouvoir pathogène de ces formes pour le lapin par injections intra-veineuses et pour la souris par injections intra-péritonéales, Ramsine constata qu'à la première génération elles n'étaient pas pathogènes pour les lapins mais que certaines le sont pour la souris ; que les hémocultures pratiquées chez les animaux présentant une infection permettaient d'isoler soit le streptocoque viridans ; soit le streptocoque non hémolytique « au cours des passages, dit Ramsine, les formes filtrables sont susceptibles d'évoluer des formes grossières banales aux formes plus perfectionnées qu'il

est difficile morphologiquement de différencier du streptocoque typique ».

Les formes filtrables ne sont pas particulières aux streptocoques scarlatineux, elles sont propres à tous les streptocoques.

Au point de vue sérologique elles donnent les mêmes réactions que les formes typiques « le sérum du lapin immunisé avec la toxine de Dick remarque Ramsine. agglutine les formes issues du filtrat à un titre plus élevé que les formes du streptocoque typique, c'est-à-dire que la toxine de Dick contient la culture vivante des formes primitives filtrables et Ramsine de conclure que « les streptocoques pathogènes donnent naissance à des formes filtrables qui traversent la bougie Chamberland F. vraisemblablement sous forme de grains visibles. Ces formes sont très résistantes et sont capables de se transformer en formes typiques virulentes et d'immuniser l'organisme contre les streptocoques pathogènes ».

Cette constatation de Ramsine relative à la présence de formes filtrantes du streptocoque dans la toxine de Dick avait une importance si considérable que différents auteurs voulurent répéter ses expériences :

Palantes et Koudriatzeva n'ont pu confirmer entièrement les conclusions de Ramsine.

Pour eux : 1° la culture du streptocoque filtré montre quelquefois dans le filtrat des granulations ressemblant à des streptocoques ;

2° Mais le repiquage de ces formes sur milieux appropriés n'a pas permis de revenir au streptocoque.

3° La présence du streptocoque au point d'inoculation du filtrat peut être due « au microbe de sortie » la souris ayant été prouvée par ces auteurs être un réservoir de streptocoques.

4° Le passage du streptocoque à travers la bougie filtrante ne peut être démontré par les procédés biologiques.

Sedaillan et Mlle Gaumond ont voulu reproduire les expériences de Ramsine et de Jimkavitch, mais ils n'ont pu obtenir une végétation de streptocoques en cultivant une culture filtrée aussi riche soit-elle d'un germe de collection. Ils y parviennent en passant par l'animal et conduisent leurs recherches de la façon suivante :

Un streptocoque cultivé en bouillon est injecté dans le péritoine du cobaye ou de la souris à doses élevées (10 cc). L'animal meurt en quinze à seize heures, le liquide péritonéal contient des streptocoques et uniquement des streptocoques, il est filtré et le produit de l'opération est d'une partensemencé et d'autre part réinoculé au cobaye ou à la souris. Ces auteurs ont pu ainsi avoir, 14 fois sur 39, des résultats positifs. Les cultures qu'ils obtiennent sont pauvres, clairsemées, poussant lentement sur la gélose. Les ensemencements n'ont pas été pratiqués sur milieux lactosés qui est le milieu de choix comme nous le verrons.

Hauduroy et Lesbre, reprenant les travaux sur la filtration du streptocoque, ont porté leurs recherches sur 26 souches. Ces souches sont ensemencées sur eau peptonée à 2 % et mises à l'étuve pendant trois ou quatre

jours, puis filtrées sur bougies L3. Les filtrats sont portés à l'étuve à 37°. Après sept à huit jours apparaît un dépôt au fond du tube, ce dépôt repiqué en bouillon ordinaire donne de nouvelles cultures mais qui se développent mal. Les repiquages sur gélose ordinaire ne donnent rien, mais ceux sur gélose lactosée et tournesolée en boîte de Petri ont permis à Hauduroy et à Lesbre de constater des cultures à aspect anormal. Après sept ou huit repiquages en moyenne, ces cultures sont devenues des cultures normales de streptocoques, repiquables dans les milieux usuels.

Au point de vue évolution morphologique de ces formes, on trouve en partant du streptocoque typique dans le filtrat, lors de l'apparition des cultures secondaires, une substance d'aspect muqueux, une gelée ne prenant pas le Gram et condensée en une sorte de gaine autour de grains Gram positif, alignés plus ou moins régulièrement. Le polymorphisme de ces grains est grand, certains sont bacillaires. Cette gaine disparaît à mesure que le nombre des repiquages augmente; les chaînettes se régularisent et on voit apparaître un streptocoque semblable au streptocoque originel.

Il ressort donc d'après les travaux de ces différents auteurs que les streptocoques humains sont capables de donner naissance à des formes filtrantes.

Urbain a reproduit ces études pour le streptocoque gourmeux. Dix huit cultures différentes de streptocoques gourmeux poussés sur bouillon sérum ou bouillon peptoné glucosé sont filtrées avec toutes les précautions voulues. Les filtrats sont placés à l'étuve et

après 7 à 15 jours, le trouble au fond du tube apparaît.

L'examen microscopique de ce dépôt montre soit des cocci isolés ou associés par deux, prenant mal le Gram, soit des formes bacillaires mal colorées granuleuses à l'intérieur desquelles existent des points violets très petits et assez éloignés les uns des autres. Réensemencés en bouillon glucosé, ce sédiment après quatre à six passages donne la forme en chaînette typique du streptocoque. Au point de vue pathogène, les grains sont capables de provoquer chez les souris une septicémie streptococcique mortelle.

Ainsi donc le streptocoque équin, comme le streptocoque humain, nous apparaît capable de nous donner des éléments invisibles filtrables pouvant reproduire par culture des éléments granulaires petits ou gros des formes bacillaires avant d'aboutir par passages successifs au streptocoque classique. Ces phases d'invisibilité et ces formes anormales ont fait naître nombre d'hypothèses sur le rôle qu'elles pourraient jouer dans la scarlatine. Les expériences sont encore trop peu probantes et trop inégales quant à leurs résultats pour que l'on puisse tirer des conclusions et jusqu'à preuves plus formelles, nous admettons avec Hauduroy qu'elles n'apportent aucun appui à l'hypothèse du rôle des formes filtrantes du streptocoque dans la scarlatine.

II. — BACILLE DYSENTÉRIQUE

La filtration du bacille dysentérique, avec celle du B. K. est une des premières qui ait été réalisée.

Elle est contemporaine de la découverte du bactériophage et c'est par l'intermédiaire de cet agent que d'Herelle a pu mettre en évidence les formes granulaires de ce bacille.

L'expérience fondamentale sur laquelle repose cette formation des granules est la suivante :

Deux tubes de bouillon ordinaire sontensemencés de bacilles de Shiga. Après quelques heures d'étuve les colonies se sont développées. Dans un des tubes de culture on ajoute du bactériophage anti, l'autre sert de témoin. Après un nouveau séjour à l'étuve, on constate que le tubeensemencé s'éclaircit, le témoin reste troublé. Dans le tube clair il est impossible de mettre en évidence une seule bactérie. Si on abandonné les deux tubes, on peut constater après un temps variant de quelques jours à un ou deux mois que le tube primitivementensemencé se trouble à niveau. Si l'on repique ce flocculat sur gélose ordinaire on obtient une culture type de bacilles dysentériques. Le microscope montre également que cette opalescence est due aux bacilles de Shiga. La culture nouvelle apparue deux mois après dans le tube constitue une culture secondaire. D'Hérelle expliqua son apparition en la considérant issue de bacilles qui auraient échappé à la lyse bactériophagienne. Pour éviter ces cultures secondaires, il filtra à travers

une bougie Chamberland L 3 le milieu éclairci par la lyse. Ces filtrats replacés à l'étuve montrèrent dans un certain nombre de cas la formation de cultures secondaires.

Hauduroy qui s'est longuement attaché à l'étude de la forme filtrante des bactéries a dès 1924 repris l'examen de ces cultures secondaires. Il a montré que ces cultures étaient d'apparition presque constante après filtration des produits lysés. Les filtrats, en tubes scellés placés à l'étuve à 37°, peuvent se troubler dès le cinquième jour aussi bien que plusieurs mois après. L'étude macroscopique et microscopique fut soigneusement conduite par ce biologiste et nous ne pouvons mieux faire que de reproduire la description qu'il en a donnée.

On voit d'abord apparaître une sorte d'opalescence très particulière, légère, homogène et on dirait qu'on a ajouté au milieu un peu de blanc d'œuf ou qu'on a à faire à du liquide d'ascite dilué. Puis cette opalescence se modifie, des grains macroscopiquement visibles apparaissent. Ils flottent dans le liquide pour la plupart. Certains sont sédimentés. Peu à peu ces grains augmentent en nombre, le milieu se trouble franchement, des ondes moirées apparaissent et l'on se trouve en présence d'une culture normale de bacilles dysentériques. Les aspects que je viens de décrire sont les plus fréquents, mais dans certains cas ce seront des grains qu'on verra apparaître tout d'abord et qui se transformeront peu à peu. Dans d'autres cas, on ne verra pas, au contraire, de phase granulaire.

Au point de vue de l'étude microscopique des filtrats de culture, il faut distinguer deux périodes : une pé-

riode pendant laquelle le liquide est clair et qui ne permet de voir aucun élément microbien au sein du liquide. Le filtrat est à ce moment « clair microscopiquement ». Une autre période pendant laquelle le liquide se trouble et qui permet de constater :

Des grains de taille variable allant de la limite de la visibilité à la grosseur d'un grain de staphylocoque. Ces grains sont isolés ou réunis en amas ; parfois ils sont disposés sur un filament qu'on a de la peine à mettre en évidence. A côté de ces formes granulaires, on voit des masses amorphes, sans structure, contenant parfois des grains et enfin de rares bacilles. Tous ces éléments se décolorent par la méthode de Gram.

Un tube de filtrat, qui, macroscopiquement, contient des agglutinats, montre à l'examen microscopique des formes granulaires, des masses amorphes, muqueuses, des masses réticulées et de rares bacilles. Au fur et à mesure que la culture secondaire, après filtration, prend l'aspect d'une culture normale, on voit en même temps des modifications se poursuivre dans la morphologie des éléments qui la composent. Les grains, les masses amorphes, disparaissent peu à peu ; ils sont remplacés par des bacilles typiques.

Hauduroy poursuivant ses études sur ces cultures secondaires a recherché leur réaction biochimique. Ses résultats aboutirent à constater que les formes anormales et granulaires présentaient des réactions sucrées violentes que le temps atténuait et ramenait au type classique.

Ainsi donc les expériences de ces deux auteurs prouvent que le bacille dysentérique présente des formes granulaires invisibles au cours de son développement.

Leurs expériences ont montré également que ces formes anormales sont très résistantes puisqu'ils ont pu repiquer en série une culture secondaire après filtration du bacille de Shiga vieille de dix ans. On peut dès lors se poser cette importante question, qui sera du reste la même pour tous les microbes que nous avons et allons étudier : la forme granulaire n'est-elle pas un des principaux vecteurs de la maladie : celle qui résiste, qui vit, qui se propage, qui se développe ?

III. — BACILLES TYPHIQUES ET PARA-TYPHIQUES

C'est en recherchant l'existence des formes filtrantes des bactéries dans la nature qu'Hauduroy a montré que les bacilles typhiques et para-typhiques pouvaient présenter des formes invisibles.

Cet auteur n'est pas parti dans ses expériences de produits de cultures, mais d'eaux de puits des environs de Paris qui avaient propagé la dothiëntenterie et qui s'étaient montrées impures à l'analyse bactériologique. Les travaux de ce biologiste ont été largement exposés dans sa thèse d'agrégation, nous essayerons de résumer ici ses nombreuses expériences.

Les eaux de puits suspectes sont divisées en deux parts. L'une est filtrée immédiatement, l'autreensemencée en eau peptonée donne une abondante culture. Cette culture est filtrée. Une partie du filtrat est mise à l'étuve, le resteensemencé en eau peptonée. Il existe

donc en somme pour l'expérimentation trois filtrats un peu différents, mais qui en fin de compte conduisent aux mêmes résultats, c'est-à-dire à l'obtention d'un germe identifiable après beaucoup de difficultés et un temps assez long.

Les premiers éléments apparus rappelèrent à l'auteur les cultures qu'il avait obtenues lors de la filtration et de la lyse du bacille dysentérique. C'étaient des grains de grosseur plus ou moins variable, des filaments très ténus, des agglutinats informes ne troublant jamais le milieu et rassemblés au fond du tube. Repris sur eau peptonée ce dépôt produisit une culture très pauvre et très lente à pousser. Hauduroy chercha à réaliser un milieu qui lui permit d'obtenir des cultures plus riches capables de rappeler le type classique.

Après une longue période de tâtonnements pendant laquelle furent essayés différents milieux, soit liquide, soit solide, soit semi-liquide, il se fixa d'abord au mélange à partie égale de gélatine et de sérum de cheval ou à chacun d'eux employés séparément. Ces milieux étaient très propices au développement des germes, mais ils présentaient un gros inconvénient : celui de ne pas permettre à l'expérimentateur de voir le développement des cultures, ce qui obligeait à faire des repiquages sur d'autres milieux. Hauduroy parvint cependant à trouver un milieu banal : la gélose lactosée tournesolée. Sur ce substrat les résultats qu'il obtint sont les suivants :

Des cultures qu'on va d'ailleurs obtenir sont au début tout à fait particulières. Supposons qu'on parte d'un tube ensemencé avec un filtrat et contenant des grains assez nom-

breux ou présentant un aspect « ascite dilué ». On ense-
mence à la pipette cette culture sur de la gélose lactosée
tournesolée qu'on a coulée dans une boîte de Pétri. On porte
à l'étuve sans retourner la boîte, le couvercle en dessus, con-
trairement à la technique habituelle. Après vingt-quatre
heures on retire de l'étuve et au premier abord il semble
qu'il n'y ait rien sur le milieu, aucune culture n'apparaît et
il faut regarder de très près pour apercevoir un léger dépoli
à l'endroit-même où l'on a fait l'ensemencement. La gélose
au lieu d'être brillante est terne à la loupe. C'est à jour fri-
sant surtout, qu'il faut observer pour s'apercevoir de cette
modification. Si on examine à la loupe on ne voit pas de
culture mais un petit granité extrêmement fin qui ne res-
semble à rien de connu.

Si ce dépoli est légèrement raclé et, à l'aide d'un fil de
platine, émulsionné dans de l'eau peptonéeensemencée
immédiatement dans une autre boîte de gélose lactosée
tournesolée, on voit « en vingt quatre-heures un dépoli
se former plus intense que dans la première expérience,
dépoli dans lequel la loupe permettra d'isoler de très
petites colonies et qui s'il est repiqué en eau peptonée
ordinaire donnera « en vingt-quatre heures, quarante-
huit heures, une culture abondante ».

Ce n'est qu'après de nombreux essais qu'Hauduroy
est parvenu à identifier le germe cultivé. La description
qu'il en a donnée est la suivante : il s'agit, dit-il, « d'un
bacille mesurant deux à trois γ de long, très mobile, se
colorant par la méthode de Gram, poussant bien en eau
peptonée, en bouillon, donnant un trouble homogène et
des ondes par agitation. Les cultures sur gélose ordi-
naire sont assez abondantes et ressemblent à celles

d'un bacille d'Eberth. La gélatine n'est pas liquéfiée: Les fermentations sucrées sont les suivantes : lactose = 0, glucose = + sans gaz, maltose = 0, lévulose = + sans gaz, saccharose = 0, gélose au rouge neutre = pas de virage, pas de fluorescence. Il ne produit pas d'indol. L'agglutination par les sérums spécifiques anti-typhiques, anti-para A, anti-para B donne les résultats suivants ; sérum agglutinant le B typhique = agglutination + au 1/50 très faiblement positif au 1/100 et 2/100 ; sérum agglutinant le bacille para A + agglutination négative, sérum agglutinant le para B, = agglutination négative ».

En présence des caractères de ce germe Hauduroy a pensé qu'il s'agissait là d'un bacille d'Eberth. ?

Il apparaît donc que le bacille de la typhoïde présente des formes invisibles non seulement au laboratoire mais encore dans la nature et que c'est par leur intermédiaire que se transmettrait la maladie.

C'est l'avis de l'auteur des expériences que nous avons relatées et qui a été amené à se demander si les selles des convalescents de fièvre typhoïde possédaient des formes filtrantes. Ces recherches lui ont permis de trouver les formes invisibles dans les filtrats de cultures obtenues en partant des matières fécales, cultures qui ne lui avaient pas permis d'isoler un bacille typhique. Les formes granulaires ressemblant en tous points à celles qu'il avait obtenues en partant des eaux de puits lui permirent de les identifier à celles du bacille d'Eberth.

Il put également les retrouver dans le sang des malades convalescents de typhoïde. A la période où l'hé-

nioculture est négative, c'est-à-dire une huitaine de jours après le début de l'infection, au moment où seule la séro-réaction permet un diagnostic possible, Hauduroy a voulu essayer de rechercher les formes filtrantes. Ces résultats ont été positifs une fois et il est à supposer que si les hémocultures restent négatives à cette période, c'est probablement que l'action bactériophagienne se fait sentir à ce moment, que le bacille typhique est lysé par le bactériophage anti qu'Hauduroy du reste a pu isoler à la fin du deuxième septenaire. On est en droit de penser que pour avoir des hémocultures positives il faudrait rechercher non seulement le bacille classique mais encore les formes filtrantes et invisibles du typhique sur gélose lactosée et tournesolée avec autant de soin qu'Hauduroy en a apporté pour leur découverte dans les eaux de puits.

Cette notion de cycle évolutif du bacille d'Eberth que l'auteur précédemment cité a fermé pour la première fois ; bacille d'Eberth — formes filtrantes du bacille d'Eberth — bacille d'Eberth permet d'éclairer d'un jour nouveau l'étiologie de la typhoïde transmise soit par des eaux reconnues souvent propres à la consommation ou par les huîtres chez lesquelles on ne trouve que très rarement le bacille typhique et qui n'en sont pas moins pathogènes.

IV. — BACILLE DIPHTÉRIQUE

Bien que peu d'expériences aient encore été faites sur la filtration du bacille diphtérique, il en est deux qu'il nous semble opportun de rapporter ici. Elles sont dues à Hauduroy et ont été présentées à l'Académie des Sciences par le Professeur Richet. Ces expériences n'ont pas encore reçu la confirmation d'autres savants et nous ne pouvons sur la filtration du bacille diphtérique que transcrire la communication même d'Hauduroy.

« Une dizaine de centimètres cubes de toxine diphtérique avait été conservés au laboratoire, à l'obscurité, en tube scellé, pendant deux ans. A ce moment, la toxine était parfaitement limpide. Mais, en agitant le tube, on voyait s'élever du fond de petits grains qui se sédimentaient à nouveau si on laissait reposer le tube. J'enseménais ce liquide à la surface d'une boîte de Petri contenant de la gélose lactosée tournesolée, milieu que je savais être le plus favorable à la culture des formes filtrantes. Après 24 heures d'étuve à 37°, apparut un simple dépoli, extrêmement fin, visible seulement en regardant latéralement la surface du milieu et ne ressemblant en rien à une culture. Ce dépoli fut soigneusement prélevé dans un peu d'eau peptonée et l'émulsion ensemencée à nouveau sur une boîte de gélose lactosée tournesolée. Un dépoli apparut après 24 heures qui fut repiqué à son tour. Au cinquième passage, j'aboutis à une culture bien visible, nette, abondante, repiquable dans tous les milieux et formée de microbes ayant les caractères morphologiques du bacille diphtérique. L'examen microscopique montre qu'il s'agit d'un bacille de 3 à 5 μ de long, se colorant par la méthode de Gram et formant des groupements en V, en Y, en

palissades. Ce microbe pousse dans le bouillon Martin sans troubler le milieu, donne un voile, pousse dans la gélose. Veillon en profondeur ne coagule pas le lait, ne liquéfie pas la gélatine, fait fermenter le glucose et le lévulose, ne fait pas fermenter le saccharose, pourtant il ne possède aucun pouvoir pathogène pour le cobaye. »

Ce microbe semble donc être toxicité exceptée, un bacille diphtérique. Hauduroy répéta ces expériences en partant de quatre toxines diphtériques defabrication différente, filtrées et âgées d'une quinzaine de jours environ.

L'ensemencement de ces toxines sur gélose lactosée tournesolée donna naissance à un dépôt semblable à ceux que j'avais vus dans mes premiers essais. Après une série de repiquages, cinq à dix, j'aboutis à des germes ayant les caractères suivants : Bacilles de trois à cinq μ de longueur se colorant par la méthode de Gram, groupés comme le bacille diphtérique, possédant des granulations, immobiles, donnant une voile ou une collerette en bouillon, le troublant parfois d'une façon uniforme, un cas ne coagulant pas le lait, faisant fermenter le lévulose et le glucose ne faisant fermenter la mannite et le saccharose, donnant sur sérum coagulé des colonies de blanc grisâtre et enfin n'ayant poussé ni en profondeur ni en surface dans la gélose de Veillon et ne possédant aucun pouvoir pathogène pour le cobaye.

On conçoit le gros intérêt que peuvent présenter ces expériences, intérêt sur lequel nous reviendrons dans nos conclusions générales. De tels faits expérimentaux ne permettent-ils pas de poser la question du rapport des formes filtrantes et de la toxine diphtérique et

peut-être des formes filtrantes et des toxines en général; de se demander si l'action de la toxine diphtérique ne serait pas due, en grande partie, aux formes filtrantes invisibles du bacille de Lœffler ?

CHAPITRE III

BACILLE DE KOCH

La filtration du bacille de Koch réalisée en 1913, marque une date dans la bactériologie moderne. Sa découverte en même temps qu'elle donnait aux recherches une orientation nouvelle, qu'elle faisait naître des hypothèses sur la vie des bactéries, montrait une fois de plus qu'en microbiologie, comme dans tous domaines biologiques, il n'y a pas de dogmes immuables et qu'il ne faut pas être trop absolu.

Koch, le 22 avril 1882, avait dit à la Société de Physiologie de Berlin : « Le bacille de la tuberculose est un germe acido-résistant dont le parasitisme est obligatoire. Il ne peut se développer qu'à la température de 37°, 40° dans les milieux riches en éléments ternaires et quaternaires. Ces conditions sont celles des êtres vivants sensibles à la tuberculose. Ce sont elles que l'on doit s'efforcer de réaliser pour cultiver le bacille *in vitro*. Le bacille ainsi cultivé produit un poison thermostable : la tuberculine ». Cette formule trop catégorique

et incomplète fit que durant 50 ans les recherches se cantonnèrent dans une partie seulement de l'étude du germe tuberculeux.

Depuis longtemps et peu de temps après la découverte du bacille certains savants infirmèrent sa fixité morphologique. Nocart et Roux et Metchnikoff (1888) Strauss (1895) et nombre d'autres après eux montrèrent que le bacille présentait des variations susceptibles d'être obtenues par ensemencement sur milieux non glycélinés et dans certaines conditions.

D'autres savants étaient frappés par le fait que des produits pathologiques tels que pus d'abcès froids, liquide céphalo-rachidien, urines des tuberculeux rénaux ne permettaient pas de mettre en évidence le bacille tuberculeux typique et qu'on pouvait cependant avec ce matériel déterminer une tuberculose expérimentale chez le cobaye.

Munich, en 1908, émit alors l'hypothèse suivante : il existe dans ces produits des bacilles de Koch qui ne sont pas décelables par la méthode de Ziehl mais qui prennent le Gram. Il admettait l'existence de corpuscules chromophiles déjà signalés par Strauss.

C'est alors que Fontes de Rio de Janeiro [1] en 1910, eut l'idée de filtrer les produits d'origine tuberculeuse pour voir si ces corpuscules hypothétiques ne pouvaient pas traverser les filtres. Ses travaux d'abord infirmés, en 1912, par Philibert (2) sont actuellement universellement confirmés. Constater dans de telles conditions le caractère virulent d'un filtrat, c'est constater un effet en en ignorant la cause, c'est admettre le passage à

travers la bougie d'éléments infectieux qui sont invisibles ; en un mot c'est faire du bacille de Koch, battonnet à dimensions connues, un germe filtrant et par suite lui soupçonner des aspects différents de celui que nous lui connaissons.

Si la définition de Koch était suspicionnée quant à la morphologie qu'il donnait du bacille, ne pouvait-elle pas l'être également quant aux conditions chimiques qu'elle assignait aux milieux de cultures ? Le B.K. devait-il obligatoirement pour se développer être ensemencé sur des milieux riches en substances ternaires et quaternaires ? Son acido-résistance était-elle intimement liée à la présence de ces substances ? En les modifiant ne serait-il pas possible de modifier non seulement les propriétés chimiques mais encore l'aspect du bacille de Koch. Ce sont là autant de questions que les travaux de Vaudremer poursuivis pendant 30 ans ont solutionnées et qui ont conduit non seulement à démontrer le polymorphisme du bacille tuberculeux, à confirmer tous les travaux antérieurs relatifs à ce sujet mais encore à aboutir à la filtration du bacille de Koch et à l'établissement par ce savant du cycle évolutif de ce germe ; il n'entre pas dans notre sujet de nous étendre sur ces aspects multiples que peut prendre le B.K. ; c'est actuellement un fait universellement reconnu et que Malartre dans sa thèse de 1927 a bien mis au point. Nous ne nous attacherons qu'à l'étude des filtrations typiques et atypiques du « germe tuberculeux » ainsi qu'à celle des produits pathologiques.

B. K. — CHAPITRE I

FILTRATION DES CULTURES

A. Filtration des cultures obtenues sur milieux glycélinés

La filtration des telles cultures, c'est-à-dire de la culture classique, n'a pas été la première réalisée ; elle est venue après la filtration des cultures obtenues sur milieux pauvres : « cultures atypiques sur milieux synthétiques ». Nous commençons par elles pour partir d'un germe à morphologie connue et aboutir à l'élément invisible et filtrant.

Cette filtration a été réalisée par Vaudremer et Hauduroy en 1923 (3). Ces auteurs partent de 6 souches de bacille de Koch cultivé sur pomme de terre glycélinée. Ces cultures sont émulsionnées dans de l'eau physiologique et filtrées sur bougie Chamberland L3.

D'autre part des bacilles poussés dans de l'eau peptonée glycélinée sont filtrés sur une bougie semblable.

Dans les deux cas, la filtration est faite sous faible pression (10 à 15 cm. de Hg.) en un temps très court (10 minutes) à travers des bougies éprouvées préalablement. Pour rendre l'expérience plus démonstrative, des cultures de *Bactérium coli* et de bacille typhique sont ajoutées au liquide à filtrer.

Les résultats sont les suivants :

1° Filtrat de l'eau peptonée glycélinée : Après 48 heures à 38° on voit dans le fond du tube contenant

le liquide filtré un dépôt abondant. Le liquide est resté clair, mais si on agite le tube *doucement*, le dépôt s'élève du fond et reste en suspension dans le milieu sous la forme d'un fin mycelium retenant dans ses mailles de petits amas jaunâtres. Agité fortement le milieu se trouble. Si on repique ces cultures en bouillon Martin, en bouillon ordinaire, en bouillon de pomme de terre ou en eau peptonée à 2 % on obtient en 48 heures des cultures de même aspect repiquables en série.

2° Filtrat de l'émulsion bacillaire.— Pendant 15 jours ce filtrat ne paraît pas pousser à 38° ; mais après on voit apparaître dans le fond du tube un dépôt pareil à celui décrit dans le filtrat de l'eau peptonée : ensemencé dans les mêmes milieux que le précédant, il pousse dans le même temps et sous le même aspect. Pour hâter le développement de la culture on peut immédiatement après la filtration ensemencer le filtrat dans de l'eau peptonée à 2 % : 48 heures plus tard on obtient une culture identique à celles que nous venons de décrire.

Aspect microscopique des cultures

Il est le même dans les deux filtrats. Le Ziehl à froid lent sans décoloration ultérieure montre un lacis délicat de filaments anastomosés entre eux. Sur ces filaments on voit des grains inégalement distants les uns des autres, fortement colorés. Leur volume varie entre la limite de visibilité et la grosseur d'un grain de millet. De place en place on voit des formes bacillaires courtes ou longues, granuleuses, incurvées ou rectilignes. Ces éléments ne sont pas colorés en rose avec le Ziehl à

chaud après décoloration à l'acide nitrique, mais après décoloration par la solution de chlorhydrate d'aniline à 2 % ; ils prennent mal le bleu de méthylène mais bien le violet de gentiane. Les grains sont Gram résistants les formes filamenteuses ne le sont pas.

Ainsi donc le bacille de Koch, outre sa forme acido-résistante, apparaît dans ces expériences comme présentant des formes non acido-résistantes dont certaines sont assez petites pour traverser les filtres de porcelaine. Ces formes donnent naissance à des formes mycéliennes, filamenteuses, granulaires non acido-résistantes.

Depuis 1923 nombreux sont ceux qui ont reproduit ces expériences et ont abouti aux mêmes résultats. Tous ont également signalé que les filtrats ne contenaient aucun élément visible et que les cultures qui en provenaient ne redonnaient pas de bacille de Koch classique. Quand nous étudierons la culture des formes filtrantes, nous reviendrons sur ce sujet.

B. — Filtration des cultures obtenues sur milieux non glycélinés

On sait depuis longtemps que le bacille de Koch n'avait pas besoin pour se développer, comme le disait son auteur, de milieux riches en substances ternaires et quaternaires.

Vaudremer (IV) a montré depuis ses travaux avec Gessard et ceux publiés à la Société de Biologie, en 1921, que si l'on ensemence des bacilles tuberculeux sur un

milieu très pauvre en azote telle l'eau de pomme de terre réalisée selon sa technique on obtient des cultures dont le développement est assez rapide mais qui donnent naissance à des bacilles dont l'acido-résistance disparaît peu à peu et dont la morphologie se modifie totalement. Il apparaît des formes granulaires de tailles très variables, qui sont isolées ou groupées sur des filaments qui eux-mêmes empruntent des dispositions particulières allant jusqu'à la zooglee. De telles cultures sont repiquables en série. Toutes ces constatations ont été confirmées depuis par nombre d'autres chercheurs, entre autres Bezançon et Hauduroy [5]. C'est partant de ces cultures sur milieux « empiriques » que Vaudremer réalisa en 1922 [VI] pour la première fois la filtration du bacille tuberculeux.

Pour ce faire cet auteur fit passer la culture à travers une bougie Chamberland L3. Dans le liquide filtré mis à l'étuve à 38°, il trouva après 48 heures des éléments ramifiés semblables à ceux contenus dans le liquide avant la filtration. Ces éléments granulaires ne sont pas acido-résistants. Ensemencés sur bouillon de pomme de terre non glycérimé ils donnent naissance à des éléments semblables et sont repiquables en série.

Un mois après l'ensemencement on peut constater la présence de formes néo-formées, granulaires et ramifiées, prenant le Gram et non acido-résistantes. Le retour à l'acido-résistance ne peut être obtenu que très difficilement et très rarement sur les milieux usuels pour culture du B-K. Ceux-ci restent ordinairement stériles. Mais la récupération de l'acido-résistance peut être réa-

lisée par passage à l'animal comme nous le constatons ultérieurement.

La conclusion, qui se dégage de la filtration des formes anormales granulaires et mycéliennes, est que le bacille tuberculeux possède non seulement le type acido-résistant que nous lui connaissons, mais d'autres aspects constitués par des éléments non acido-résistants dont certains sont assez petits pour traverser la bougie et qui sont capables de restituer la forme visible décelable au microscope et qui peut récupérer par passage à l'animal son acido-résistance.

C. — Propriétés pathogènes des filtrats de cultures

a) Cultures poussées sur milieux empiriques

C'est encore aux travaux de Vaudremer que nous devons de connaître l'action des cultures filtrées sur les animaux. Ses résultats furent vérifiés par d'autres auteurs qui aboutirent aux mêmes conclusions.

Cette action des filtrats de cultures, Vaudremer [VIII] la définit en ces termes que nous lui empruntons :

« Les cultures involuées obtenues après filtration produisent des indurations locales quand elles sont inoculées sous la peau de cobaye. Ces indurations se développent en huit jours environ, et disparaissent en trois semaines. Elles ne déterminent pas de tuberculose généralisée de l'animal. L'inoculation intra-veineuse détermine une polyadénite tardive généralisée et exception-

nellement des périarthrites conjonctives. Ces lésions rappellent le micro-polyadénite des enfants et le syndrome de Poncet. Parfois, trois ou quatre mois après l'infection, on trouve chez quelques-uns des animaux en expérience un ganglion inguinal ou sous-maxillaire en voie de ramollissement. L'ensemencement du pus caséeux renfermé dans ce ganglion, sur Pétroff ou sur pomme de terre glycinée, donne naissance à des cultures discrètes qui se développent en 6 semaines ou 2 mois. Ces cultures sont formées de granules libres ou disposés en chainettes de trois ou quatre éléments. Ces granules sont acido-résistants. Ils semblent être séparés en deux $1/2$ cercles par un axe interpolaire ; après une série de repiquages sur Petroff ou sur pomme de terre glycinée, ils récupèrent la forme typique du bacille de Koch...

Les éléments granulaires ayant récupéré l'acido-résistance à la suite d'un premier passage à l'animal déterminent une escarre qui apparaît en 48 heures et disparaît en 6 semaines environ, quand ils sont injectés sous la peau du cobaye. L'animal ne se tuberculise pas. En revanche ses éléments tuent parfois les cobayes quand ils sont injectés par voie intraveineuse... Les animaux qui survivent présentent deux mois plus tard une forme de résistance particulière à l'infection. En effet, l'inoculation d'une dose massive de bacilles tuberculeux humains virulents détermine, au point où elle est faite, un nodule qui n'apparaît que 3 ou 4 semaines plus tard. Ce nodule grossit lentement, se ramollit, se vide et disparaît sans ulcérer la peau et sans détermi-

ner le chancre habituel d'inoculation. Les témoins, eux, présentent le plus souvent un chancre d'inoculation grand comme une pièce de un franc. D'ailleurs la résistance locale dont il est question ne confère au cobaye traité aucune immunité générale ».

b) Cultures poussées sur milieux glycélinés

Valtis (7) a vérifié au laboratoire du Prof. Calmette ces faits expérimentaux en partant des cultures poussées sur milieux glycélinés.

Deux centimètres cubes d'une culture en bouillon glycéliné âgée de 2 mois, sont dilués dans 48 cm³ d'eau physiologique et filtrés après 3 jours de séjour à l'étuve à 37°. Dix centimètres de ce filtrat sont injectés à un lot de 2 cobayes ; L'un meurt 7 jours après de Pasteurellose ; le second 140 jours après, présentant à l'autopsie comme lésion tuberculeuse une hypertrophie ganglionnaire trachéo-bronchique avec une petite lésion d'hépatisation au lobe supérieur droit.

Une deuxième expérience refaite avec une culture âgée de trois semaines et filtrée sur bougie L3 redonne les mêmes résultats et Valtis de conclure :

« Les formes filtrables du bacille de Koch inoculées au cobaye par voie sous-cutanée, provoquent toujours des lésions de même ordre à savoir : une hypertrophie de courte durée des ganglions dans la région inoculée, la tuméfaction des ganglions trachéo-bronchiques et des lésions d'hépatisation pulmonaire contenant des bacilles de Koch ».

Cette conclusion s'applique également à l'action des formes filtrantes des produits pathologiques comme nous le verrons.

De leur côté Arloing (9) et Dufourt ont établi : que les cobayes inoculés avec le filtrat d'une culture récente de tuberculose n'ont montré après 6 semaines aucune lésion tuberculeuse apparente ; il leur a été possible de constater la présence de très nombreux bacilles dans les ganglions lombaires et trachéo-bronchiques, ainsi que sous-maxillaires mais en plus petit nombre dans ces derniers ; ils ont conclu que :

« Les formes filtrantes du bacille de Koch n'ont pas engendré dans leurs expériences de lésions viscérales apparentes, ni de lésions locales, ou ganglionnaires caséuses ; l'infection a été uniquement lymphatique se propageant de proche en proche ».

Ainsi donc il apparaît nettement, d'après les travaux de ces différents auteurs, que l'inoculation des filtrats de bacilles de Koch détermine chez le cobaye des foyers caséux (Vaudremer) ceux-ci ne se produisent que tardivement, 4 ou 5 mois après l'injection de filtrats qui a pour effet de déterminer une infection du système lymphatique sans tuberculose généralisée (Vaudremer, Arloing, Valtis) et qui fait cependant périr l'animal de cachexie.

B. K. — CHAPITRE II.

A. — FILTRATION
DES PRODUITS PATHOLOGIQUES

Il n'est pas possible dans l'étude de la filtration des produits pathologiques de procéder comme pour l'étude de la filtration des cultures. C'est qu'en effet la culture du filtrat des produits tuberculeux peut ne pas contenir uniquement le « germe tuberculeux ». En dehors du B. K. dans les crachats il y a toutes sortes d'autres associations. Le pus des adénites, le liquide pleurétique, les urines, s'ils sont généralement amicrobiens peuvent cependant renfermer certaines bactéries. Aussi quand on les filtre peut-on avoir en dehors des formes filtrantes du B. K. celles du staphylocoque, du streptocoque, de l'entérocoque ou du coli et la mise en évidence du bacille tuberculeux ne peut être réalisée que par l'inoculation au cobaye. Ceci aboutit en définitive à étudier le pouvoir infectieux des produits pathologiques.

C'est Fontès (X) qui, en 1910, a le premier, établi ce pouvoir et qui par ses expériences a ouvert le champ à tous les travaux que nous exposons ici.

Fontès dilue dans de l'eau du pus caséeux, le filtre à travers une bougie Berkefeld et inocule le liquide à un cobaye. Le cobaye inoculé ne présente pas de chancre ; au bout de quinze jours les ganglions inguinaux sont durs et un peu augmentés de volume. L'animal est sacrifié ; les ganglions et la rate un peu augmentés aussi,

ne renferment pas de bacilles, mais leurs lymphocytes sont bourrés de granulations, c'est-à-dire de corpuscules chromophiles. La rate est inoculée à un deuxième cobaye ; cinq mois après, ce second animal est sacrifié ; il ne présente pas de tuberculose ganglionnaire mais de la tuberculose pulmonaire avec bacilles dans les poumons.

En 1923 Valtis, sous les auspices du Prof. Calmette prit le soin de répéter les expériences de Fontès et, en partant du pouvoir infectant des produits tuberculeux pathologiques filtrés, de confirmer les faits précédemment avancés par Vaudremer pour les cultures du B. K. Valtis (XI) part des crachats tuberculeux. Il les autolyse à l'étuve pendant trois jours suivant le procédé de Besançon et Philibert. L'autolysat est centrifugé, le culot est émulsionné dans de l'eau physiologique et filtré à travers une bougie Chamberland L2 vérifiée. Cinq ou dix cc. de ce filtrat sont inoculés au cobaye. Valtis constate alors que du dixième au quinzième jour les ganglions voisins du point d'inoculation se tuméfient légèrement pendant quelques jours. Puis que tout redevenait normal jusqu'au troisième ou quatrième mois et qu'à cette époque les animaux mouraient. On ne relevait pas alors à l'autopsie de tuberculose généralisée mais une atteinte du système lymphatique et particulièrement des ganglions trachéo-bronchiques qui contenaient des bacilles acido-résistants typiques et quelquefois de petits foyers d'hépatisation pulmonaire.

Valtis obtint les mêmes résultats avec le filtrat du pus d'un ganglion mésentérique d'un singe mort de tuberculose pulmonaire (11).

Vaudremer, Durand (12 a), puis Durand et Vaudremer (12) injectant dans la cavité péritonéale de 2 cobayes l'un mâle, l'autre femelle, le filtrat d'un pus d'abcès froid émulsionné dans de l'eau stérile, constatent qu'environ deux mois après l'inoculation le mâle présente une orchite qui se fistulise et dont le pus qui s'en échappe « est rempli de bacilles tuberculeux typiques ».

Carlo-Verdina (13) d'une part, Vannuci (14) d'autre part, en Italie, aboutissent aux mêmes résultats.

Vannuci filtre des produits tuberculeux à travers des bougies Berkfield Liliput W et par injection péritonéale au cobaye parvient à reproduire des lésions histologiquement tuberculeuses chez quelques animaux, avec présence de bacilles acido-résistants.

Carlo-Verdina filtre deux fois de suite divers produits tuberculeux et les inocule aux cobayes. Il n'obtient pas de tuberculose généralisée mais une infection ganglionnaire avec présence de bacilles acido-résistants dans les ganglions.

F. Arlôing et Dufourt, puis Arlôing, Dufourt et Maltre qui ont très approfondi cette question des lésions provoquées par l'inoculation du virus tuberculeux filtrant ont donné à leurs travaux des conclusions très intéressantes sur lesquelles nous reviendrons. Ils ont remarqué que ces filtrats déterminent des lésions tuberculeuses et bacillifères sans qu'on puisse jamais observer de chancre d'inoculation au voisinage du point inoculé.

Durand et Charchanski (15), puis Durand (16) seul ont constaté à l'aide des mêmes filtrats de semblables lésions ganglionnaires mais de plus ils ont noté parfois l'apparition d'un chancre d'inoculation avec réaction ganglionnaire de voisinage.

Demetre et Jonnesco (17) ont rapporté en février 1927 que, dans quatre cas l'inoculation sous la peau de l'émulsion d'une parcelle de muco-pus d'un crachat filtré, avait déterminé après huit semaines des tubercules, visibles à l'autopsie, sur le foie, dans les poumons et dans différents groupes ganglionnaires ; et que ces tubercules contenaient des bacilles acido-résistants.

Quelle que soit la provenance du produit pathologique, il est possible de montrer la virulence de leurs filtrats, et de conclure à la présence du virus tuberculeux.

C'est ainsi que Veber (18) opérant à l'aide de liquide de pyo-pneumothorax qu'il filtre à travers une bougie L2 et qu'il injecte au cobaye a pu constater après quatre mois la mort des animaux sans noter de chancre d'inoculation mais des lésions ganglionnaires avec bacilles.

Nelis (19) étudiant l'urine des tuberculeux rénaux a obtenu après deux à quatre semaines des lésions identiques.

Nous avons nous-même constaté avec Vaudremer et Rouché, au laboratoire du Pr Gosset en 1924, à maintes reprises la présence des formes granulaires et filtrantes dans de semblables urines et nous avons noté aussi l'action propice qu'exerce sur le développement du bacille le milieu lactosé tournesolé que Hauduroy devait signaler comme étant un milieu de choix pour le déve-

loppement des formes filtrantes des bactéries. Nous avons en même temps entrevu un procédé de diagnostic rapide de la bacilliose rénale par culture en 24 h. des formes filtrantes.

Nasta (20) puis Ionesco et Bonciu (21) avec le liquide filtré de pleurésie séro-fibrineuse ont obtenu également des lésions ganglionnaires.

Malartre (22) a essayé de mettre en évidence des formes filtrantes dans le sang des tuberculeux mais il se heurta à des difficultés de technique qui l'empêchèrent d'aboutir à des résultats satisfaisants.

Cependant Bonciu et Ionesco (23) tout récemment ont inoculé à des cobayes le sang total et le sang filtré de tuberculeux pulmonaires et de sujets atteints de méningite tuberculeuse et ont pu obtenir les lésions caractéristiques des animaux inoculés avec les formes filtrantes du B. K. Ces auteurs ont conclu de leurs expériences que les formes filtrantes du B. K. se trouvent souvent dans le sang des bacillaires, et même que fort probablement ces formes sont parfois plus abondantes que la forme typique puisque l'inoculation du sang non filtré lui même a, dans 2 cas sur 3, déterminé une infection à évolution et à lésions en tous points identiques à celles qui caractérisent l'inoculation des éléments filtrables du bacille de Koch.

Les expérimentateurs français ou étrangers qui se sont attachés à cette étude sont trop nombreux pour que nous nous arrêtions à leurs travaux qui tendent tous aux conclusions précédentes.

Nous ne citerons que leurs noms : Titu Vasiliu et Ch. Iriminoiu (24), Bonis (25), Mlle Togounoff (26), Van Beneden (27), Canelli et Lorenzo Bosco (28), Saladino Cramarosa (29), Partearroyo (30), Lydia Rabinowistch Kempener (31), Elij Jost et Ralph et Mellon (32), Bocchini (33), Taylor Mello (35) et d'autres encore.

B. — CARACTÈRES ANATOMO-CLINIQUES DES LÉSIONS PROVOQUÉES PAR L'INOCULATION DES FILTRATS DES PRODUITS TUBERCULEUX.

Nous venons dans le chapitre précédent de démontrer que les produits tuberculeux les plus divers contiennent des formes filtrantes du bacille tuberculeux ; nous avons vu aussi que leur inoculation semble donner comme principales lésions des lésions ganglionnaires.

Arloing, Dufourt et Malartre (36) qui ont étudié spécialement cette tuberculose expérimentale atypique du cobaye ont publié, à l'Académie le 30 novembre 1926, qu'en inoculant sous la peau des cobayes des filtrats de produits tuberculeux variés, on obtenait :

« *Première forme.* — Une tuberculose en marche progressive avec lésions caséuses nodulaires éparses dans les ganglions et les viscères, généralement discrètes et localisées, mais sans chancre d'inoculation. Cette forme est la plus rare.

Deuxième forme. — Une tuberculisation sans chancre d'inoculation se révélant par une simple hypertrophie ganglionnaire prédominant habituellement sur le groupe trachéo-bronchique avec présence de bacilles acido-

résistants dans le suc des ganglions. Cette forme beaucoup plus fréquente (14 fois sur 30) peut aboutir à une cachexie lente des cobayes qui succombent émaciés en trois ou quatre mois environ ».

Au point de vue évolution clinique, cette tuberculisation très spéciale possède également des caractères anatomiques particuliers : « Si on laisse vivre ces cobayes on ne remarque rien pendant deux ou trois mois. Ce n'est qu'ensuite que les animaux commencent à dépérir. Ils deviennent peu à peu squelettiques..... puis meurent de cachexie ».

Arloing et ses collaborateurs (36) dans des recherches ultérieures ont constaté que leurs conclusions primitives étaient trop étroites. C'est qu'en effet, à côté des cobayes qui présentent des lésions pulmonaires évoluant vers la mort de l'animal il en est qui semblent supporter sans modifications profondes de l'état général les inoculations et qui ne meurent pas.

Deux causes peuvent être invoquées dans ce dernier cas :

1° Les unes inhérentes aux produits injectés à savoir : que le filtrat est virulent et qu'il ne contient pas d'éléments filtrants tuberculeux.

2° Les autres inhérentes à l'animal dont l'organisme lutterait contre l'infection et qui finirait par triompher.

Pour vérifier cette deuxième hypothèse Arloing et Dufourt (37) ont étudié « systématiquement pendant longtemps l'intra-dermo-réaction à la tuberculine » et ils ont pu établir un troisième mode d'action des filtrats. Ceci

déterminerait une infection passagère de courte durée cessant avec la disparition dans l'organisme du virus filtrant inoculé et seulement décelable par une allergie tuberculinique fugace.

Durand, Oury et Benda (38) ont observé que des cobayes inoculés à diverses reprises avec un virus filtrant d'origine différente ne présentèrent aucune lésion spécifique mais que durant deux mois leur poids diminua progressivement pour descendre jusqu'au quart de leur poids respectif, puis peu à peu le poids est remonté pour atteindre, après quelques mois, leur poids primitif. Un an après leur inoculation, ils sont en parfaite santé. Un cobaye témoin inoculé avec le même produit non filtré est mort en deux mois avec les lésions habituelles. Ces auteurs n'ont pas pratiqué l'intra-dermo-réaction qui sans doute aurait confirmé les faits rapportés par Arloing et Dufourt.

Action pathogène du virus filtrant suivant la voie d'introduction.

Les différentes lésions que créent l'inoculation du B. K. ont été obtenues dans les études précédemment exposées les plus souvent par des inoculations sous-cutanées, voie la plus ordinaire d'infection expérimentale. Cependant l'inoculation sous-cutanée n'a pas été la seule étudiée.

La voie intra-veineuse qui permettrait une plus grande dissémination du filtrat dont on recherche le pouvoir infectant a permis à Vaudremer d'obtenir des résultats éloignés caractérisés par des lésions diffuses à types assez

particuliers telles des péri-arthrites chroniques ankylosantes forme Poncet.

La voie intra-cardiaque a été utilisée par Vaudremer, Haudroy, Togounoff.

La voie intra-péritonéale par Vaudremer, Valtis, Arloing, Togounoff, etc..

La voie oculaire a permis à Togounoff de tuberculiser le cobaye.

Il résulte de ces différents modes de contamination que la voie intra-péritonéale semble être celle qui permette d'infecter le plus rapidement le cobaye et d'obtenir des lésions les plus faciles à contrôler par ce que plus diffuses, fait sur lequel a particulièrement insisté Valtis (39).

Conclusions

De toutes les recherches que nous venons d'exposer, il ressort donc maintenant que le bacille tuberculeux présente un développement cyclique commençant aux granules non acido-résistants filtrables et finissant aux bacilles acido-résistants (Vaudremer 1923 à 1924). Ce cycle est actuellement un fait classique.

B. K. — CHAPITRE III

**PROPRIÉTÉS PARTICULIÈRES DES FORMES
FILTRANTES DU BACILLE TUBERCULEUX**

**Bacilles acido-résistants de passage issus de
filtrats et bacilles de Koch issus de cultures. Va-
riabilité du virus filtrant tuberculeux**

Nous avons vu dans le cycle évolutif du bacille tuberculeux que les formes filtrantes aboutissaient après passage à l'animal aux bacilles acido-résistants. Une question se pose : les bacilles ayant récupéré leur aspect morphologique typique peuvent-ils déterminer des lésions bacillaires semblables à celles obtenues en partant des cultures ordinaires des bacilles de Koch sur bouillon glycérimé et isolés de crachats ou d'autres liquides pathologiques. En d'autres termes, le pouvoir pathogène des bacilles issus de filtrats est-il le même que celui de bacilles tuberculeux issus directement des lésions tuberculeuses ? Peut-il être accru ou diminué par passages successifs à l'animal.

Valtis (40-41) a étudié cette question et dans une communication à la Société de Biologie, le 9 juillet 1927, opère de la façon suivante :

Dans une première série d'expériences des lots de cobayes sont inoculés par voie sous-cutanée avec des doses minimales de 4.40.400 bacilles d'un virus bovin virulent qui sert ordinairement pour la préparation des

filtrats. Tous ces animaux ont présenté à l'autopsie les mêmes lésions : ganglions caséeux, adénites profondes caséeuses, lésions nodulaires caséeuses dans tous les organes.

Dans une seconde série d'expériences, un autre lot de cobayes est infecté par voie sous-cutanée avec des ganglions de cobayes précédemment infectés avec des filtrats tuberculeux et présentant des bacilles en plus ou moins grand nombre : « ne déterminant pas de lésions typiques mais seulement une tuméfaction ganglionnaire semblable à celle que provoque l'inoculation directe des filtrats », malgré la présence dans ces lésions de bacilles acido-résistants. Ce qui permet à Valtis de conclure que « les bacilles acido-résistants issus des éléments filtrables du virus tuberculeux dans l'organisme des animaux inoculés avec les seuls filtrats (soit d'organe, soit de culture) présentent les mêmes caractères au point de vue pathogène pour le cobaye et produisent les mêmes effets que l'inoculation directe des filtrats ».

Valtis, Nègre, Boquet, Mlle Certonciny confirment la fixité de la virulence atténuée des bacilles provenant de filtrats. Les expérimentateurs pratiquent des réinoculations en série des organes de cobayes qui présentaient au sein de leur tissu des bacilles acido-résistants provenant de l'injection aux animaux de filtrats tuberculeux.

Leur conclusion est qu'après cinq passages, ces bacilles n'avaient pas récupéré la virulence de la souche qui avait servi à la préparation du filtrat.

Cependant, dit Valtis (43), une association microbienne, une suppuration telle celle qui est peut-être consécutive aux inoculations des passages peut favoriser l'éclosion de la virulence et déterminer une tuberculose typique, mais à allure lente avec lésions ganglionnaires très accentuées, scléreuses et par des lésions viscérales discrètes, bacillifères.

Arloing, Dufourt et Malartre ont essayé d'apporter eux aussi une réponse à cette question. Ils ont tenté de reproduire en partant des tuberculoses expérimentales à type spécial des lésions nodulaires typiques. Ils se sont servi des réinoculations en série.

Les ganglions des animaux morts cachectiques, contenant des bacilles sont prélevés et inoculés à des cobayes qui sont sacrifiés deux ou trois mois après. A ce second passage Arloing, Dufourt et Malatre trouvent des bacilles acido-résistants dans les ganglions, mais pas trace de tuberculose nodulaire.

Un troisième passage sur le cobaye leur donne les mêmes résultats, mais ils ne trouvent plus de bacilles chez certains animaux et ces auteurs concluent : « Il semble donc que les caractères pathogènes des bacilles issus de virus tuberculeux filtrant gardent une certaine fixité ».

Cependant Arloing et Dufourt dans une très récente communication, confirment les travaux précédents, mais ils apportent des faits expérimentaux qui leur permettent de montrer que la diminution de la virulence des bacilles acido-résistants issus de lésions provoquées par inoculation de filtrats n'est pas un fait ri-

goureusement stable et que parfois ces bacilles peuvent récupérer progressivement la virulence de la souche originelle par des passages successifs.

C'est ainsi qu'ils ont observé qu'un filtrat qui ne donnait lors de son premier passage qu'une hypertrophie ganglionnaire provoquait à un second passage un ganglion inguinal légèrement caséux et à un troisième passage une tuberculose généralisée nodulaire typique avec chancre d'inoculation non encore observé suivant Valtis.

Mlle Togounoff confirme les observations de Valtis mais elle a pu également au second passage obtenir un chancre d'inoculation dont le pus contenait un petit nombre de bacilles acido-résistants. Sacrifiés au bout de cinq mois l'émulsion des ganglions contenant des bacilles fut inoculée à un troisième cobaye qui ne présenta pas de chancre et qui après six mois fut sacrifié et chez lequel Mlle Togounoff trouva quelques bacilles acido-résistants.

Plus récemment Durand, Kourilsky, Benda, confirmèrent les conclusions d'Arloing. Pour eux les bacilles issus de filtrats ne sont pas toujours doués de propriétés pathogènes atténuées. Ces bacilles peuvent apparaître rapidement dans les lésions après un minimum de passages successifs en même temps que l'on voit s'exalter et non toujours de façon strictement parallèle le pouvoir caséogène.

Swenij (48) à l'aide d'un bacille diphtéroïde isolé par culture des lésions obtenues par inoculation d'un filtrat de pus d'abcès froid a pu rendre après deux passages la

virulence et les caractères morphologiques d'un bacille tuberculeux humain.

La conclusion à admettre de ces différents travaux est que :

1° Si le bacille acido-résistant issu des filtrats semble déterminer la même tuberculose à type anatomo-clinique qu'engendre l'inoculation du filtrat;

2° Si le plus souvent le bacille acido-résistant voit sa virulence diminuer par des passages successifs à l'animal, il peut dans certains cas la voir également exaltée et il est nécessaire d'être très prudent dans la façon de conclure sur ce sujet, car les conséquences sont grandes à notre avis; des essais de thérapeutique vaccinale ne sont-ils pas tentés avec les filtrats non tués de bacilles?

La diversité de virulence des souches du bacille de Koch est trop bien connue pour que l'on ne soit pas en droit de supposer au filtrat de ce même bacille une très grande variabilité dans son pouvoir pathogène et de ne pas être en droit également de lui refuser un processus infectieux type et des lésions anatomo-cliniques toujours les mêmes.

Rapport entre les bacilles acido-résistants et les formes filtrantes. Temps de conservation du virus tuberculeux

A la suite de ces conclusions on peut se demander quel est le rapport qui existe entre la présence des bacilles acido-résistants et la présence des formes fil-

trantes. Faut-il qu'il y ait les premiers pour que les seconds existent ? La présence des bacilles implique-t-elle nécessairement l'existence du virus filtrant ? L'étude de la filtration du pus des abcès froids et des tumeurs blanches, où l'on ne trouve que de très rares bacilles acido-résistants et où avec Vaudremer nous trouvons et cultivons presque constamment « les granules » non acido-résistants montrent que la présence du virus tuberculeux n'est nullement liée à la présence du bacille acido-résistant.

Inversement Arloing (49-50) recherchant le temps de conservation du virus filtrant tuberculeux conclut : que la présence de bacilles acido-résistants tuberculeux dans une culture ou un produit pathologique ne s'accompagne pas inmanquablement de la présence du virus filtrant ». Ce temps de conservation étudié par Valtis (51) et par Arloing et Dufourt n'est pas suffisamment établi pour qu'on puisse lui fixer des limites. On peut dire seulement que Valtis a pu infecter des cobayes avec des filtrants ayant séjourné pendant huit jours à la glacière et que Arloing a pu « aussi bien dans les crachats que dans les filtres mettre en évidence pendant quarante trois jours environ à dater du jour où ils ont été recueillis un virus filtrant labile éveillant seulement chez le cobaye une allergie tuberculinique temporaire ».

Action des agents physiques sur les formes filtrantes du bacille de Koch

Quoique à son aurore l'étude des modifications apportées par les agents physiques sur les formes filtrantes ont déjà été étudiées par quelques auteurs.

F. Arloing et A. Dufourt (52), Cluzet, Chevalier, Kefman (53), dans les recherches qu'ils firent sur l'action des rayons ultra-violet, des courants de basse et de haute fréquence sur les filtrats des produits tuberculeux, constatèrent que la virulence de ces derniers était plus ou moins diminuée.

L'action de ces différents agents a été vérifiée par l'intra dermo-réaction à la tuberculine.

Ces auteurs ont constaté que la diminution de l'activité des filtrats se manifestait par l'allongement de la période anté-allergique, le raccourcissement de la période allergique, la diminution de la sensibilité à la tuberculine à 1 pour 50 et la nécessité d'employer des taux plus élevés de tuberculine (1 pour 10) pour obtenir des réactions positives.

Les recherches de l'intradermoréaction pour ces études particulières nous conduisent à étudier l'action de la tuberculine chez les animaux inoculés avec des filtrats.

Réaction des animaux inoculés à l'aide des formes filtrantes du bacille de Koch et intradermoréaction

Nous avons vu précédemment qu'Arloing, Dufourt et Malartre étudiant l'action pathogène des filtrats chez les animaux avaient employé l'intradermoréaction pour mettre en évidence la forme passagère et curable de la tuberculose chez certains cobayes inoculés avec le filtrat.

En 1925 J. Paraf (54) a montré que les cobayes inoculés avec des filtrats tuberculeux non seulement deviennent sensibles à la tuberculine mais encore résistent pendant un délai de trois à quatre mois à de nouvelles injections virulentes de moyenne intensité.

Boquet, Nègre et Valtis (55) en 1926 ont repris cette étude et sont arrivés à des conclusions moins absolues. Pour eux les cobayes inoculés par voie sous-cutanée ou intra-péritonéale à l'aide de filtrats de culture ou de produits tuberculeux « deviennent irrégulièrement sensibles à la tuberculine ».

Mais ils confirment Paraf quant à la résistance appréciable de ces animaux vis-à-vis de l'inoculation de faible dose de bacilles virulents.

Pour Arloing et Dufourt (56) l'intradermoréaction est différente suivant la forme clinique et anatomique de l'infection.

Si les cobayes présentent « une tuberculose passagère et durable » nous avons vu qu'ils manifestent une cer-

taine allergie tuberculinique qui réclame pour être décelée des dilutions de tuberculine plus faibles que celles employées normalement (un pour 50). La sensibilité à la tuberculine chez ces animaux apparaît au bout de 24 jours environ (24 à 50 pour Popper et Rubeano) (57) mais ne peut se manifester qu'après plusieurs mois selon les auteurs précédents (58) six à sept mois dans les cas rapportés par Arloing et Dufourt malgré la présence des bacilles acido résistants situés dans un point quelconque de l'organisme. Il existe donc un certain retard entre l'apparition de cette allergie et celle provoquée par l'inoculation de bacilles acido-résistants non filtrés. Quand cette allergie se manifeste on observe à partir de ce moment une réaction progressivement croissante pendant une huitaine de jours puis pendant les huit jours suivants une réaction se bornant à une papule rouge. Enfin l'intensité de la réaction décroît pour aboutir finalement à la réaction négative malgré les dilutions de plus en plus faibles (1 pour 25, 1 pour 10).

Cette période d'allergie tuberculinique a été, dans les cas étudiés de 45 jours à dater de la première réaction érythémateuse. L'anergie tuberculinique devenue absolue 15 à 20 jours après la dernière réaction allergique avec la tuberculine à 1 p. 50 et 3 mois plus tard existait toujours.

Si les cobayes présentent des lésions nodulaires ou un état cachectique avec bacilles acido résistants dans les ganglions, ils réagissent généralement à l'intra-dermoréaction comme si l'inoculation avait été faite avec des produits tuberculeux non filtrés.

Immunité et virus filtrants

Si étudier la variation de l'intradermo réaction à la tuberculine est pour certains auteurs suivre dans une certaine mesure la façon dont l'organisme infecté se défend ou succombe à l'infection tuberculeuse, c'est suivre aussi la façon dont il réagit après la pénétration dans son organisme d'une nouvelle dose de germes virulents. C'est voir s'il est ou non en état d'immunité plus ou moins prononcée vis-à-vis d'une nouvelle contagion.

Il est intéressant de savoir si l'inoculation des filtrats peut créer une résistance à la contamination par bacilles acido-résistants.

Cette étude peut être faite :

Soit avec des filtrats chauffés ;

Soit avec des filtrats non chauffés, c'est-à-dire encore virulents.

a) FILTRATS VIRULENTS.

Nous avons vu dans le chapitre précédent que certains animaux à la suite d'inoculation de filtrats tuberculeux n'ont pas présenté de lésions et de plus ont manifesté comme l'ont montré les travaux de Paraf et Valtis une certaine résistance à des infections ultérieures de bacilles virulents.

Vaudremer (59) avait déjà remarqué que les formes granulaires du B. K. pouvaient être injectées sans chauffage préalable même dans les méninges sans occasionner de troubles mortels et que parfois ces animaux

présentaient des signes de méningite larvée avec paralysie des différents sphincters et paraplégie, qu'ils guérissaient et qu'ils devenaient résistants à de nouvelles injections intra-méningées de bacilles tuberculeux vivants.

Arloing, Thévenot, Dufourt et Malartre (60) ont, à l'Académie de Médecine, en octobre 1927, apporté à leur tour des preuves du pouvoir immunisant de certaines souches filtrantes tuberculeuses retirées de cultures ou de produits pathologiques humains.

Cette étude demande à être approfondie car elle présente un gros intérêt non seulement pour les bactériologistes mais encore pour les hygiénistes et les pédiatres.

« L'hérédo-immunité peut être logiquement admise comme possible à la suite du passage transplacentaire d'éléments tuberculeux filtrants » disent les auteurs de la communication.

b) FILTRATS TUÉS PAR CHAUFFAGE : APPLICATION THÉRAPEUTIQUE.

Vaudremer (61) a montré dans ses travaux et en particulier dans l'étude du pus d'abcès froids que les formes granulaires que l'on cultive en eau peptonée ou en bouillon de pommes de terre non glyceriné sont identiques à celles que l'on obtient par culture après filtration sur les mêmes milieux ; que ces formes granulaires sont également semblables à celles recueillies par culture du bacille de Koch en milieu aspergillaire. Etudiant le pouvoir immunisant de ces cultures chez le

cobaye Vaudremer (67) a établi qu'inoculées sous la peau elles leur conféraient dans 80 % des cas une résistance accusée durant au moins 15 mois.

Ces faits expérimentaux ont été le point de départ d'application thérapeutique chez l'homme intéressant d'abord les tuberculoses externes ensuite les bacillooses pulmonaires (62).

Poursuivies depuis 1924 par Vaudremer (63) et nous-même tant au service du professeur Gosset qu'à l'hôpital de Saint-Germain-en-Laye (64) en collaboration avec Larget et Lamare ou que dans divers services hospitaliers, cette méthode a donné des résultats publiés à maintes reprises, par Vaudremer et Paulin dans les travaux de la clinique chirurgicale de la Salpêtrière 1926, par Vaudremer, Puthomme et Paulin (65) à la séance du 15 février 1927 de l'Académie de Médecine, par Paulin à la Société Médico-Chirurgicale de Saint-Germain-en-Laye, par Vandervelt (66) dans le *Progrès médical* d'octobre 1927 dont la statistique est supérieure à celle des auteurs précédemment cités.

Il n'entre pas dans le cadre de notre sujet de nous étendre plus longuement sur ces intéressants travaux de grande portée pratique auxquels le lecteur voudra bien se reporter.

Fitrats employés en intra-dermo pour le diagnostic de la tuberculose par virus filtrant

Popper et Railéano (68) ont poursuivi ces recherches en partant d'un filtrat de crachat tuberculeux qu'ils in-

jectent aux cobayes par voie sous-cutanée. Ces mêmes filtrats après chauffage d'une heure à 60° pendant 3 jours de suite sont utilisés pour l'intradermoréaction chez ces mêmes cobayes inoculés-auparavant avec les filtrats non chauffés.

Le protocole des opérations est le suivant :

Inoculation aux cobayes du filtrat non chauffé ;

Recherche de l'allergie par la tuberculine, à 1/1000 et par le filtrat chauffé ;

Répétition des inoculations de 3 jours en 3 jours ;

Lecture des résultats de 24 et 48 heures après.

Ces résultats exposés pour chaque lecture dans la communication des auteurs ont pour conclusions : qu'il est possible de différencier par leur intensité et par le moment de leur apparition, les réactions à la tuberculine des réactions aux filtrats tuberculeux chauffés.

Les réactions aux filtrats tuberculeux apparaissent plus tôt, gagnent très rapidement en intensité et sont manifestes au moment de l'apparition de l'allergie tuberculinique : « la réaction positive avec un filtrat pourrait être considérée disent les auteurs comme le signe révélateur d'une infection active par un virus filtrant ».

Cette réaction serait spécifique (71) de la présence des formes filtrantes du virus tuberculeux labile (Arloing Dufourt) car les cobayes témoins inoculés avec des bacilles virulents ne présentent pas ces réactions allergiques aux filtrats chauffés tandis qu'ils présentent la réaction habituelle à la tuberculine. Cette réaction est indépendante de l'origine du filtrat qui peut très bien

provenir d'un filtrat de culture des B. K. sur milieu de Petraghani. Les résultats en sont superposables (72).

Popper, Slobosiano et Raileano (69) ont recherché les réactions d'allergie cutanée aux filtrats tuberculeux chauffés chez le nourrisson. Ils pratiquèrent leurs recherches sur 45 nouveau-nés. Sept ont présenté une intra-dermo-réaction intensément positive aux filtrats chauffés. Parmi ces enfants, quatre ont eu la réaction à la tuberculine à 1 % faiblement positive. A la suite de ces résultats les auteurs pensent que l'intra-dermo-réaction aux filtrats tuberculeux chauffés serait le meilleur réactif pour la mise en évidence des infections tuberculeuses congénitales chez les enfants nouveau-nés.

Nelis (70) a recherché après les auteurs précédents comment pouvaient réagir à l'inoculation intra-dermique d'un filtrat de culture de bacille de Koch les enfants nés de parents tuberculeux mais présentant une cuti-réaction négative. Ces recherches ont abouti à faire ressortir que l'enfant issu de parents tuberculeux et porteur d'une cuti-réaction négative se montre très sensible à l'injection intra-dermique d'un filtrat de culture de bacille de Koch alors que dans des conditions analogues le malade tuberculeux adulte réagit aux mêmes filtrats d'une façon beaucoup plus faible comparativement à l'intra dermo-réaction faite en même temps avec la tuberculine.

Sterling Okuniewski (70) a recherché les réactions cutanées aux filtrats tuberculeux (non chauffés ?) chez les sujets atteints de tuberculose.

Chez les sujets sains ou indemnes de toutes lésions tuberculeuses, l'intra-dermo-réaction aux filtrats s'est montrée négative. La cuti-réaction de Pirquet aux filtrats tuberculeux en solution à 1 P. 2 dans la glycérine l'est également.

Chez les sujets atteints de tuberculose pulmonaire l'intra-dermo-réaction aux filtrats tuberculeux est positive même dans le cas où le Pirquet est négatif. La cuti-réaction aux filtrats chez les sujets présentant de l'adénopathie cervicale est négative. Elle peut être positive chez les malades atteints d'adénopathie trachéo-bronchique ou de lésions pulmonaires des sommets au début. La cuti-réaction aux filtrats tuberculeux ne présente pas de valeur diagnostique ou pronostique, l'intra-dermo-réaction aux filtrats aurait davantage de valeur.

B. K. — CHAPITRE IV

PASSAGE DES FORMES FILTRANTES DU BACILLE DE KOCH A TRAVERS LE FILTRE PLACEN- TAIRE HÉRÉDITÉ DU VIRUS TUBERCULEUX.

En abordant ce sujet de l'hérédité tuberculeuse vieille question qui depuis 1890 et plus particulièrement pendant ces dernières années avait reçu un semblant de solution grâce aux affirmations et à l'autorité scientifique de certains auteurs qui niaient à l'origine du mal, soit l'influence de la transmission du

germe de la mère à l'enfant, soit à celle du terrain, on avait conclu « qu'on ne devait plus parler d'hérédité.

Nous ne voulons pas agiter en détail ce que Malartre nomme « l'irritante question du germe tuberculeux » (22) Le procès est ouvert à nouveau, d'autres bases lui sont données : quand on parle du germe tuberculeux on ne doit plus penser seulement à la forme acido résistante de Koch, mais encore à des formes ultra-microscopiques et filtrantes. L'aurore du « virus tuberculeux » qui s'est élevée sur le champ des investigations est beaucoup trop récente pour qu'on puisse tirer des conclusions définitives. Celles-ci seraient prématurées et elles ne peuvent être que des hypothèses que seul le recul du temps, de nouvelles recherches et de nouvelles statistiques maintes fois répétées et faites dans un esprit de profonde impartialité permettront de réaliser. Plus que jamais les expérimentateurs doivent se défendre de dogmatiser.

Pour nous, nous apporterons ici les faits nouveaux que les acquisitions récentes sur les formes filtrables du bacille de Koch ont permis d'établir quant à son passage à travers le filtre placentaire. Puis nous exposerons ce que personnellement nous pensons de la question estimant que tout praticien devant un sujet aussi important doit avoir une opinion.

Nous présenterons successivement ce que le laboratoire nous apprend et ce que la clinique nous fournit.

A. Faits expérimentaux

La première démonstration expérimentale du virus tuberculeux à travers le placenta a été donnée le 19 octobre 1925 à l'Académie des Sciences par MM. Calmette, Valtis, Nègre et Boquet (74). Ces auteurs ont voulu connaître le rôle que jouent les formes filtrables du bacille tuberculeux dans la contagion tuberculeuse et surtout dans la transmission in-utéro de la mère à l'enfant. Il convenait dès lors d'injecter à des cobayes femelles, avant et après la gestation, des filtrats de produits tuberculeux ou de culture et de rechercher chez les enfants s'il était possible de retrouver les formes atypiques du B. K. ou de déceler leur présence par les manifestations qu'elles créent dans les organismes qui les hébergent.

Les résultats de ces investigations sont les suivantes (43) : Dans une première série d'expériences des cobayes atteints de tuberculose reçoivent dans leur péritoine une injection d'émulsion bacillaire. Ces cobayes meurent. Leur liquide d'ascite est prélevé stérilement filtré, conservé à l'étude pendant quarante huit heures, ensemsé sur milieux ordinaires pour s'assurer de leur pureté et inoculé à 11 cobayes par quatre fois en injections sous-cutanées à des doses croissantes répétées de quatre jours en quatre jours. Trois des animaux meurent peu de temps après. Ils ne présentent aucune lésion tuberculeuse apparente mais leurs ganglions trachéo-bronchiques légèrement hyper-

trophisés contiennent des bacilles de Koch acido-résistants.

Vingt-cinq jours après la dernière inoculation une femelle en état de gestation met bas deux petits dont l'un mort-né, n'est pas autopsié ; mais dont le second sacrifié à sa naissance, « présente des ganglions mésentériques de la grosseur d'un petit pois et contiennent des bacilles de Koch typiques ».

Dans une seconde série d'expériences Calmette et ses collaborateurs partent d'une émulsion de culture de B. K. (origine bovine) âgée de vingt jours. Ils filtrent et après s'être placés dans des conditions expérimentales rigoureuses injectent à trois reprises différentes vingt, quinze, dix centimètres cubes des filtrats à un cobaye femelle en état de gestation.

Vingt jours après la première inoculation la femelle met bas quatre petits dont l'un est sacrifié à sa naissance. On trouve une hypertrophie ganglionnaire sous hépatique ainsi que péri-portale et dans les frottis des ganglions on note quelques amas de bacilles de Koch acido-résistants.

Le 3 novembre 25 Arloing et Dufourt (75) apportent une autre démonstration de ce transit trans-placentaire. Un filtrat provenant d'un ganglion trachéo-bronchique caséux prélevé chez un enfant est injecté à une femelle de cobaye en gestation. Cet animal ayant mis bas, un des petits est sacrifié et on trouve dans le frottis des ganglions lombaires des bacilles acido-résistants.

Ainsi donc, tels sont les faits expérimentaux où les formes filtrantes du bacille de Koch injectées aux co-

bayes femelles pendant la gestation avaient franchi le placenta, étaient parvenus au fœtus et avaient évolué vers la forme acido-résistante.

B. Faits cliniques

La clinique nous offre de semblables exemples.

Arloing et Dufourt (76), le 23 mars 1926 apportèrent à l'Académie de Médecine » la première observation de transmission héréditaire d'ultra virus tuberculeux ». Il s'agissait d'une fillette pesant 1300 grammes, née au septième mois de la grossesse d'une mère atteinte de bacillose avancée, isolée dès la naissance, élevée en couveuse, cette enfant perdit progressivement du poids malgré l'absence de troubles intestinaux, vint à peser 1170 grammes et mourut deux mois après sa naissance. A la nécropsie les viscères et les ganglions ne présentaient aucune trace de lésions tuberculeuses, mais on trouva quelques bacilles dans les ganglions mésentériques et des cobayès inoculés avec les filtrats de ces ganglions présentèrent à leur tour des bacilles acido-résistants dans leurs ganglions quelques mois après.

De leur côté, Calmette, Valtis et Lacomme dans le service de Couvelaire (77) revinrent sur les travaux de Debré et Lelong (83). Ils poursuivirent leurs recherches en se basant sur les nouvelles notions du germe tuberculeux.

Ils étudièrent cent produits, enfants au fœtus, de 99 mères tuberculeuses soustraits dès leur naissance à toute infection extérieure. Sur ces cent naissances, il y

eut 21 morts sur lesquels 10 autopsies ont pu être faites et sur ces 10 autopsies, 9 fois l'inoculation des viscères provoqua les lésions caractéristiques des éléments filtrables du virus tuberculeux.

Léon Bernard (79) dans un article récent conclut en ces termes : « Ces faits nouveaux fondés sur la découverte récente permettent donc d'affirmer qu'un certain nombre d'enfants apportent la preuve du passage à travers le placenta de femmes tuberculeuses d'éléments qui relèvent du virus tuberculeux..... Voilà le fait indéniable », ajoute-t-il. Mais quelle portée lui attribuer ? » Voilà aussi que là recommence le duel. Nous ne voulons pas exposer ici la controverse qui existe entre différents auteurs quand il s'agit de savoir si les morts des enfants « par cachexie de dénutrition progressive » sont dues à une « action toxique de l'ultra-virus tuberculeux » (Calmette) ou à une « action de nombre » (Léon Bernard). C'est là un sujet où des données expérimentales plus avancées que celles que nous possédons sur la nature du virus tuberculeux, sur ses propriétés chimiques, biologiques et pathogènes, sur la nature anatomo-clinique des lésions qu'il crée chez l'animal et chez l'homme permettront peut être d'apporter une réponse.

Si nous voulons serrer le problème de plus près, comme dit le professeur Léon Bernard, dans un autre passage de l'article précédemment cité, il conviendrait à notre avis, que les expérimentateurs fassent table rase pour un certain temps des notions qu'ils ont hérité depuis 1882, parce que ces notions ne répondent qu'à une partie seulement de la question.

L'exposé que nous avons donné, relatif à la mise en évidence des formes filtrantes du B. K. de leurs différentes propriétés, de leur action et même de leur passage à travers le filtre placentaire, s'il n'a pas la prétention d'être le maximum de nos connaissances actuelles sur l'ultra-virus tuberculeux, n'en constitue pas moins cependant la majeure partie. Est-il possible sur ces données aussi bien de détruire l'œuvre du passé que d'étayer des dogmes nouveaux.

Un exemple suffit : « chez les enfants séparés de leur mère tuberculeuse dès la naissance, jamais la cuti-réaction n'est positive ; or, les animaux inoculés avec des filtrats tuberculeux présentent des intra-dermo réactions inconstantes certes, mais non inexistantes. Il serait singulier que les enfants de tuberculeuses séparés n'eussent jamais de cuti-réactions positives ». C'est l'objection de Monsieur Léon Bernard contre « les morts inexpliquées » qui seraient dues pour certains à l'ultra-virus tuberculeux.

Les expériences d'Arloing et Dufourt ne montrent-elles pas que l'allergie tuberculinique ne peut apparaître chez les cobayes infectés avec des filtrats tuberculeux que fort tard, et que pour la mettre en évidence, il faut avoir recours à des taux de tuberculine supérieurs à ceux que l'on utilise habituellement. Cette réaction à la tuberculine, d'autre part, apporte-t-elle une preuve d'infection par le virus filtrant tuberculeux. On ne comprend pas pourquoi, et les expériences semblent le confirmer, les formes filtrantes non acido-résistantes et non tuberculiniques seraient soupçonnées par un

Pirquet ou une intra-dermo-réaction à la tuberculine.

Et puis cette intra-dermo-réaction et cette cuti quand elles sont positives sont-elles bien spécifiques d'une imprégnation bacillaire et inversement quand l'organisme héberge des bacilles acido-résistants, ces tests sont-ils toujours positifs ? On connaît les constatations faites à ce sujet par MM. Calmette, Guérin, Nègre et Boquet relatives à l'intra-dermo-réaction chez les sujets vaccinés au B. C. G. et Calmette a dû affirmer dernièrement « que la réaction tuberculinique positive ne peut plus être considérée comme un critérium d'infection (80) ».

Si on étudie les travaux étrangers ayant trait au problème de l'hérédité tuberculeuse, en particulier, les très intéressantes et documentées publications de Ravetllat-Plat et R. Pla-Y-Armengol (81) qui a décrit lui aussi les formes filtrantes du bacille tuberculeux sans avoir recours au filtre on est un peu étonné de voir que tous ces savants sont moins affirmatifs, nous n'osons pas dire plus prudents, que nos chercheurs.

Pla-Y-Armengol a publié dans le *Bruxelles Médical* de février 1928 trois longs articles du plus haut intérêt sur l'hérédité tuberculeuse. Il ne nous est pas donné de les analyser ici malgré le gros intérêt qu'ils présentent, mais il nous ont permis de discuter certains points de notre propre conception du problème.

C. Conceptions personnelles du problème de l'hérédité

Pour nous l'infection fœtale trans-placentaire par le virus tuberculeux est un fait que nous admettons entiè-

rement. Le nouveau-né à sa naissance est très fréquemment porteur de formes filtrantes non acido-résistantes du germe tuberculeux qu'il hérite de sa mère.

Que devient cet enfant ?

1° Si dès sa naissance il est isolé dans un dispensaire, c'est-à-dire placé loin de toute infection extérieure, par bacilles acido-résistants ; s'il est mis dans des conditions matérielles favorables ; s'il est soumis à une hygiène rigoureuse comme on sait la donner dans « les Œuvres » ; l'organisme lutte contre l'infection et il se passe chez le jeune enfant ce qui se passe chez le cobaye placé dans les mêmes conditions et infecté avec des filtrats : il peut dépérir pendant quelque temps puis reprendre le dessus jusqu'au jour où il aura éliminé ses formes filtrantes. Ces formes peuvent peut-être même conférer à son organisme une certaine résistance. Leur disparition, le manque de réaction tuberculinique après l'âge de quinze ans expliquerait la sévérité des tuberculoses qui apparaissent à l'adolescence.

Où alors les granules non acido-résistants se transformeront en formes acido-résistantes classiques conférant à l'enfant une tuberculose typique qui pourra se manifester plus ou moins tôt. Pendant cette période d'imprégnation granulaire, il n'est pas étonnant de voir les tests à la tuberculine négatifs, ces derniers n'étant pas spécifiques de l'agent infectieux en cause. Une réaction différente à découvrir pourra témoigner.

Les statistiques favorables des dispensaires et les morts par bacillose que l'on constate dans ces conditions ne sont pas en désaccord avec cette conception, 7,2 0/0 de

morts en 1915 à 1926 chez le Professeur Couvelaire.

2° Si l'enfant est laissé dans sa famille ou même en contact avec des bacillaires par le fait d'inoculations fractionnées et répétées, il se tuberculise. Son organisme est en état d'équilibre tuberculeux, d'instabilité tuberculeuse dirions-nous et une faible dose de bacilles (ou de poisons tuberculeux ?) transforme ce tuberculeux en puissance, en un tuberculeux effectif. Différents facteurs peuvent aider à cette transformation, mauvaises conditions hygiéniques, alimentaires, maladies intercurrentes peut-être même puberté, tous éléments qui diminuent la résistance du sujet et qui permettent aux formes granulaires d'opérer leur mutation en formes acido-résistantes sur un terrain qui leur est propice. Cette dernière conception est aussi celle de notre maître Vaudremer qui a donné dans son ouvrage sur le « Bacille tuberculeux » (59) une explication basée sur les acquisitions modernes de l'origine de la « pandémie tuberculeuse urbaine ».

De cet exposé qui demanderait plus de développement si le cadre s'y prêtait, il apparaît donc que nous admettons « l'hérédité de graine » en entendant toutefois par ce mot celui de graine ultra-microscopique et non de bacille de Koch ; ce mode de contagion trans-placentaire du germe tuberculeux nous apparaissant d'après les statistiques (133 cas dans la littérature !) comme extrêmement rare.

Devant cette conception, nous le savons, la critique ne peut manquer de s'élever. Pas plus qu'il nous a été permis d'étayer nos idées sur un exposé de fait expérimental.

taux cliniques et statistiques, pas plus il ne nous est permis de faire la controverse de nos propres opinions. Cependant nous donnerons la réponse à cette principale objection que l'on peut nous faire : à savoir que nous avons envisagé la tuberculose de la mère à l'enfant, d'une mère tuberculeuse à son enfant et qu'il existe dans des cas où le père étant tuberculeux, la mère étant saine le nouveau-né étant séparé dès sa naissance du milieu contagieux devenait cependant tuberculeux.

« Des enfants nés d'une mère saine et d'un amant phtisique, disait Hutinel, deviennent tuberculeux tandis que les fils antérieurs nés de la même mère et du père légitime non tuberculeux restent indemnes ».

En d'autres termes nous semblons exclure la contagion héréditaire paternelle.

Pour nous l'hérédité de terrain existe. La clinique nous le montre « un phtisique naît d'un phtisique, disait Hippocrate ; c'est « une expérience trop habituelle pour tous les praticiens que les enfants des phtisiques sont plus fréquemment atteints de cette maladie que les autres », disait Laënnec.

Mais quel est le facteur de cette hérédité. Qu'est-ce qui transmet à l'enfant l'élément infectieux du père. Celui-ci se trouve-t-il dans le sperme ou le spermatozoïde ? L'état de nos connaissances ne nous permet pas de répondre. Nous savons que quelques auteurs soutiennent en s'appuyant sur les expériences de Gartner, Mafucci, Baumgarten, etc..., ainsi que sur la clinique humaine que l'infection du fœtus est due à une infection provoquée d'abord chez la mère par un sperme bacilli-

fère et que secondairement l'enfant est contaminé in-utéro. Les investigations jusqu'à ce jour ont été poursuivies en recherchant comme germe tuberculeux le germe acido-résistant, elles demandent à être reprises en essayant de déceler le virus filtrant.

Puis en abordant ce sujet un parallélisme ne se crée-t-il pas avec un autre germe que nous avons décrit comme présentant des formes filtrantes, nous voulons parler du spirochète de Schaoudin — l'hérédosyphilis est une chose qui existe — l'hérédotuberculose ne peut-elle pas exister ?

Et enfin cette hérédité de terrain viendrait-elle à être démontrée, ne serait-elle pas une conséquence de l'hérédité de graine ? Ce faciès de phtisique, cet aspect filiforme de cet adolescent fils d'un ancien pulmonaire qu'on croit tuberculeux et qui n'en présente aucun symptôme clinique, n'est-il peut être pas le reflet d'une discrète « cachexie expérimentale » que nous connaissons.

La question est passionnante, les formes filtrantes du B. K. l'éclairent d'une lueur nouvelle, elles lui découvrent d'autres horizons en même temps qu'elles en repoussent les limites.

Mais si comme nous venons de l'exposer, l'enfant né de parents tuberculeux est pour nous un infecté, un tuberculeux en puissance, un tuberculeux tuberculisable, s'il se trouve dans les premières années de sa vie comme nous disons en instabilité tuberculeuse, qui à la moindre occasion extrinsèque ou intrinsèque, défaillance organique ou infection bacillaire, peut-être

rompue, combien est grande la tâche des hygiénistes et des pédiatres dont le devoir est de maintenir cet équilibre. Et si les lueurs nouvelles dont nous parlions plus haut semblent devoir apporter des modifications dans notre concept, et du bacille et de la tuberculose en général, nous pensons qu'elles ne doivent modifier en rien l'armement anti-tuberculeux actuellement existant. Nous estimons même au contraire que nos acquisitions ne font que l'affirmer davantage. Plus que jamais nous devons soustraire l'enfant à la contagion quelle qu'elle soit. Une fois isolé, nous devons le considérer comme un infecté, comme un tuberculeux à type spécial, mais non comme un être qui doive obligatoirement, fatalement faire de la tuberculose et évoluer vers la mort. Nous devons soutenir, fortifier, modifier son organisme et lui permettre de triompher de son infection primitive latente. Celle-ci lui conférant peut-être aussi une certaine résistance vis-à-vis de contaminations ultérieures, nous essayerons de faire de cet enfant un adolescent puis un adulte sain chez la descendance duquel il n'y aura plus à parler d'hérédité tuberculeuse.

APPENDICE

Depuis la rédaction de notre travail, M. le Pr Calmette a apporté fin juin à l'Académie des Sciences une nouvelle étude fort importante (82) faite dans le service du Pr Couve-laire avec la collaboration de MM. Valtis et Lacomme qui appuie notre concept du problème de l'hérédité tuberculeuse. Les recherches de ces expérimentateurs ont porté sur

173 enfants nés viables dont 21 parmi lesquels 12 dans le premier mois sont morts après la naissance, avec 20 fœtus expulsés, le total des pertes se trouve porté à 41. Sur les 21 enfants morts, 15 seulement purent être autopsiés et permirent de trouver un ultra virus qui injectés à des animaux ne provoque généralement que des lésions bénignes.

« Il existe bien, dit le Pr Calmette, une hérédité bacillaire, la seule qu'on put déceler autrefois. Elle est rare et presque souvent mortelle à bref délai pour le nourrisson mais à côté, il existe également une hérédité par virus filtrant (formes filtrantes du bacille de Koch déjà étudiées par Fontès, Vaudremer, Arloing, Dufourt, Calmette, etc. . qui n'est dangereuse que si le nourrisson reste exposé à la contagion des bacilles de son entourage. Ces recherches confirment qu'il existe non pas rarement mais fréquemment dans le sang des femmes atteintes un virus tuberculeux invisible capable de traverser le placenta et d'infecter le fœtus in-utéro ».

Les conclusions du Pr Calmette confirment nos idées exposées dans le chapitre précédent. Elles montrent, aux termes de la communication qu'on est conduit à distinguer l'hérédité bacillaire proprement dite qui est rare de l'infection trans-placentaire par l'ultra-virus qui est au contraire très fréquente et qui lorsqu'elle ne détermine pas la mort rapide du fœtus ou celle du nouveau-né par « dénutrition progressive » ne paraît guère avoir de conséquences graves pour la santé des nourrissons, lorsque ceux-ci ne sont pas exposés à des réinfections bacillaires dans leur milieu familial ». Puis le Pr Calmette confirme l'ensemble des mesures anti-tuberculeuses actuellement en œuvre.

TROISIÈME PARTIE

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS

De la longue étude que nous venons de faire : d'abord sur la filtration, ensuite sur celle des produits de la filtration des différentes bactéries, plusieurs réflexions et conclusions semblent devoir s'imposer. Ces conclusions, dans un tel sujet, ne peuvent être absolues et nous nous défendons de dogmatiser.

Des incertitudes de la biologie

Comme nous l'avons signalé dans notre introduction l'étude des filtrats de produits pathologiques et des cultures microbiennes montre que certains dogmes et en particulier ceux de la Biologie ne sont pas immuables.

Les différentes expériences que nous avons relatées suffisent à affirmer qu'actuellement un liquide ayant

franchi les parois poreuses d'une bougie la plus fine soit-elle, ou la membrane d'un ultra-filtre ne permettent plus de dire que le filtrat est « pur ». Il n'est pas « stérilisé » et la filtration ne constitue pas à elle seule un procédé de stérilisation.

Ceci nous permet d'ajouter du reste qu'un liquide n'est stérile au sens bactériologique du mot qu'après avoir été soumis à la chaleur et dans certaines conditions.

Nous avons vu en effet que les microbes visibles tels le bacille de la péripneumonie des bovidés, le pneumosinte, le streptocoque, le staphylocoque, le bacille typhique, le dysentérique, le diphtérique, le *Proteus* X. 19, les spirochètes et le B. K. pouvaient nous apparaître sous des formes jusque-là insoupçonnées et dépasser les limites de la visibilité pour présenter des formes invisibles. Ce sont là des données bien nouvelles qui nous écartent beaucoup de la définition classique du streptocoque ou du B. K. Nous devons reconnaître que si elles apportent dans certains esprits un plus ou moins grand scepticisme, elles n'ont pas moins pour effet de faire apprécier cette réflexion de Pasteur à Pouchet : « dans les sciences expérimentales, on a toujours tort de ne pas douter alors que les faits n'obligent pas à l'affirmation ».

Et quand ces faits obligent à l'affirmation, ne faut-il pas encore les examiner à travers l'écran du doute ? L'expérience avait permis d'établir au streptocoque, au bacille typhique, au bacille diphtérique, une morphologie assez bien déterminée ; les faits que nous

avons rapportés ne montrent-ils pas que nous avons comme toujours tendance à vouloir soumettre la réalité aux limites de notre intellect.

De la réalité des formes filtrantes

Ce voile du doute a plané pour nombre d'auteurs pendant longtemps sur l'existence des formes filtrantes des bactéries. Actuellement il ne reste obscur que pour peu.

Il était légitime, en effet, de les suspicionner au moment où elles furent découvertes. Existe-t-il vraiment des formes invisibles de microbes visibles ? Quelles sont-elles et quelle est leur nature ? Certains auteurs et en particulier les Russes et les Américains s'obstinent à ne pas vouloir reconnaître ces formes. Cependant les expériences que nous avons relatées à condition qu'elles soient refaites dans certaines conditions déterminées par les auteurs, permettent d'établir que les filtrats de cultures microbiennes soit qu'ils aient été obtenus par lyse bactériophagienne, soit qu'ils aient été cultivés dans certaines conditions, présentent à un certain moment un trouble ne correspondant à rien de visible mais qui va pourtant donner naissance au bout d'un certain temps à des formes granulaires. Ceci établit suffisamment, semble-t-il, que pendant un certain temps il existe dans le milieu de cultures des germes que nous ne pouvions pas voir. Faut-il généraliser et penser, comme le fait Bail, que toutes les bactéries présentent à côté de leur forme végétative visible une

forme filtrante invisible, un « splitter ». Nos connaissances relatives à la filtration des bactéries ne sont pas encore suffisamment étendues pour qu'il nous soit possible d'entrer entièrement dans les vues de Bail.

Nous ne reprendrons pas à notre compte les arguments fournis par Hauduroy contre ceux qui voulaient voir dans les formes filtrantes des impuretés provenant de bactéries banales de l'air. Ces arguments ont été longuement exposés tant dans diverses communications que dans son mémoire d'agrégation. Du reste depuis la parution de ces travaux cette notion de forme filtrante invisible et granulaire est à peu près reconnue par tous.

A mesure que le nombre des bactéries étudiées augmente, à mesure on découvre qu'il doit exister pour chaque microbe des phases d'invisibilité.

Des formes filtrantes dans la nature

Les expériences poursuivies sur le bacille typhique par Hauduroy, ou sur le bacille de Koch par Vaudremer, par d'autres auteurs pour d'autres bactéries nous ont montré que les formes invisibles et filtrantes existent dans la nature.

Une question se pose celle de savoir comment apparaissent ces formes.

Hauduroy a proposé une hypothèse. D'après cet auteur cette formation est sous la dépendance du principe lytique du bactériophage. Le bactériophage comme l'ont montré d'Hérelle et Hauduroy n'agit pas à distance par

l'action de sécrétions. Il appartient à cette catégorie que constituent les ultra-virus ou virus filtrants d'autrefois et qui ne peuvent vivre qu'à l'intérieur d'une cellule vivante. Le bactériophage parasitant une bactérie la ferait éclater comme il ferait éclater une cellule. Ces fragments de bactérie seraient sans doute assez petits pour ultra-filtrer.

Sont-ils sous une forme cellulaire organisée ? Jusqu'où va leur petitesse ? Ce sont là des problèmes sur lesquels nous ne pouvons répondre et sur lesquels nous reviendrons ultérieurement.

Cette formation granulaire peut être vraie pour les bactéries dont on possède un bactériophage anti mais jusqu'à présent on n'a pas pu acclimater un bactériophage à *o* bacille de Koch et cependant les travaux de Vaudremer et de tant d'autres sont là pour mettre en évidence les formes filtrantes du B. K. Force nous est de songer à une formation différente des granules, indépendante de l'action lytique du bactériophage. Sous quel phénomène apparaissent-ils ?

Vaudremer, par ses travaux sur l'action de la pyocyanine sur le B. K. ou de certaines moisissures en particulier de l'*Aspergillus*, d'autres auteurs par leurs recherches sur la fragilité du bacille vis-à-vis de certaines substances chimiques, tendraient à faire penser que l'on doit chercher la genèse du granule tuberculeux dans une action lytique chimique.

Mais ce ne sont là qu'hypothèses que des recherches ultérieures devront confirmer.

IMPORTANCE DES FORMES FILTRANTES

Nous avons déjà, au cours de notre étude, parlé à différentes reprises de l'importance des formes filtrantes ; nous voulons essayer de mettre en évidence cette influence dans différents domaines.

Dans le domaine biologique

La découverte des formes filtrantes et l'étude de leurs caractères biologiques ont permis de séparer les formes invisibles des microbes des ultra virus.

Actuellement « les infra microbes ou ultra virus vrais sont invisibles, incultivables dans les milieux artificiels usuels. filtrants, parasites intra-cellulaires, biotroques » (Hauduroy).

Ce sont là autant de propriétés sur lesquelles nous n'insisterons pas, l'ayant déjà fait dans notre avant-propos, cependant une propriété retiendra notre attention : le biotropisme.

Propriété caractéristique de l'ultra virus. Pour certains savants l'ultra virus ne peut se développer qu'en parasitant une cellule et uniquement une cellule vivante, « la vie seule permettrait la vie » pour Hauduroy. A ce groupe des infra microbes appartient un grand nombre des virus filtrants d'autrefois. Si avec les progrès de la science cette classe tend à diminuer, faut-il entrevoir le jour où elle entrera tout entière dans le domaine des microbes filtrants ; autrement dit les ultra

virus n'existent-ils encore qu'en raison de l'impuissance de nos instruments d'optique, et ne sont-ils pas rattachables aux microbes connus par des chaînons qui nous échappent ? Cette conception uniciste serait en effet légitime après l'ensemble des faits que nous avons rapportés. Elle satisfait pleinement l'esprit et Ch. Nicolle dans les *Annales de l'Institut Pasteur de Tunis* (1925) a exposé cette théorie dans un article « Origine microbienne des infra microbes ». Cependant si satisfaisante que soit cette hypothèse, Hauduroy pense que les ultra-virus forment une classe bien individualisée et qu'il n'est pas possible de les rattacher à quelque chose morphologiquement connu. Et ceci en raison même de cette propriété « spécifique » de l'ultra virus : le biotropisme.

Quoiqu'il en soit et dans l'état actuel des choses, les savants ont apporté un peu de lumière dans ce domaine de l'infra-visible.

Microbes de sortie

Il est encore un point sur lequel l'existence des formes invisibles des bactéries est susceptible d'apporter une solution. C'est le problème des « microbes de sortie ».

On sait qu'au cours ou au décours de certaines infections il est possible d'isoler certains microbes. C'est ainsi que la gorge ou les bubons des scarlatineux relèvent du streptocoque, que le bacille de Pfeiffer peut s'isoler du sang des grippés sans toutefois que ces microorganismes, isolés et cultivés, soient capables de reproduire les infections dont ils sont les associés habi-

tuels. On peut dès lors se demander s'il n'existe pas un lien entre la forme invisible et inconnue qu'est le virus grippal ou scarlatin et ce microorganisme visible d'apparence banale. Les faits expérimentaux que nous avons rapportés au sujet de la filtration du streptocoque montrent bien qu'il semble incontestable qu'un lien existe entre l'ultra-virus scarlatin et les formes filtrantes des streptocoques de la scarlatine.

Héricourt dans son livre sur *Le terrain dans les maladies* se demande au sujet du cancer s'il ne serait pas possible de considérer également la symbiose cellulaire, dont on a formulé l'hypothèse, comme se faisant entre des formes microbiennes invisibles dont les germes, hôtes constants des tumeurs, ne seraient également que des formes de sortie. »

Dans le domaine clinique

La connaissance de formes invisibles de bactéries visibles et l'étude des éléments granulaires peut présenter un gros intérêt pour la compréhension de l'étiologie et de la pathogénie de certaines infections.

Nous savons par exemple que les spirochètes peuvent revêtir des formes granulaires invisibles d'après les expériences que nous avons relatées. Nous savons également qu'il est peu de cas de syphilis qui permettent de constater le tréponème dans le sang circulant des malades. La forme granulaire ne serait-elle pas la forme de l'imprégnation syphilitique?

Nombre de problèmes de pathogénie des spiroché-

tores pourraient grâce aux éléments granulaires, recevoir si non une solution du moins une hypothèse satisfaisante.

Nous avons exposé longuement au chapitre de la tuberculose l'importance que nous attachons aux formes filtrantes du B. K., dans cette période de l'imprégnation granulaire que nous avons nommée « période d'instabilité tuberculeuse ».

Nous rappellerons que pour nous le granule tuberculeux traverse beaucoup plus fréquemment qu'on le suppose le filtre placentaire, tuberculisant ainsi l'enfant, mais ne créant pas chez le jeune individu une tuberculose devant évoluer obligatoirement vers une localisation externe ou pulmonaire et déterminer la mort, mais créant un état d'instabilité et parfois de faiblesse qui oblige le pédiatre ou l'hygiéniste à s'entourer de certaines précautions. Cette instabilité tuberculeuse s'étend généralement jusqu'à la puberté et à cette époque, si l'enfant est soumis à un régime et à des conditions de vie régulières et favorables, il se libère de cette tare héréditaire et à mesure qu'il vieillit, notre « tuberculeux tuberculisable » devient un sujet de plus en plus réfractaire à l'inoculation de nouvelles doses de B. K.

Ainsi la notion de granule, tant spirochétien que tuberculeux capable d'ultra-filtrer, nous permet-elle d'entrevoir le mécanisme complètement inconnu jusqu'ici de la transmissibilité héréditaire de certains germes.

— Certains problèmes relatifs à l'étiologie des maladies infectieuses peuvent, avons-nous dit, trouver une solution dans la notion de formes filtrantes.

Nous avons vu, en effet, qu'aussi bien pour d'Herelle que pour Hauduroy, Vaudremer, Fejgin, Kermorgant, les granules bactériens étaient doués d'une extrême résistance et vitalité, et qu'ils se trouvaient très fréquemment dans la nature, si fréquemment que certains d'entre eux ont émis l'idée que la forme bactérienne que nous connaissons, celle que tous nos manuels décrivent, n'est qu'un aspect de la bactérie au cours de son développement, quelquefois même l'aspect le moins courant.

Les expériences d'Hauduroy sur les eaux de puits des environs de Paris qui avaient donné naissance à des cas de typhoïde, ou celles sur l'eau des huîtres infectantes, prouvent nettement l'existence des formes granulaires dans la nature.

On peut se demander alors si la période d'incubation de certaines infections ne correspondraient pas souvent à la pénétration dans l'organisme de ces granules qui, rencontrant un terrain propice, poursuivraient leur évolution vers la forme visible connue. Certaines épidémies saisonnières trouveraient là leur explication.

Les travaux d'Hauduroy que nous signalions plus haut ont montré également qu'au déclin de la typhoïde les formes granulaires du bacille d'Eberth apparaissent. Ceci confirmerait l'évolution cyclique du germe infectant dans l'organisme et nous serions amenés à considérer la maladie comme l'éclosion de la forme classique de ce germe.

Intérêt pratique de la découverte des formes filtrantes : vaccination

La découverte des formes granulaires ne présente pas seulement un intérêt théorique mais encore un intérêt pratique. Leur culture, leur obtention soit par filtration, soit par bactériophage anti, a permis aux expérimentateurs de mettre au point certains procédés thérapeutiques nouveaux.

Nombreux sont les médecins qui ont inauguré des traitements en partant des filtrats de culture microbienne mettant à profit la forme granulaire visible et invisible des bactéries.

On sait que Besredka a établi un procédé de vaccination locale qui a trouvé en pathologie humaine des applications très nombreuses. Nous n'insisterons pas sur cette technique qu'à l'heure actuelle tout le monde connaît, et qui se montre plus particulièrement efficace dans le traitement de ces infections furonculeuses qui n'en finissent pas, dans celui de l'anthrax, des panaris des mammites, et dans d'autres infections microbiennes qui sont souvent si rebelles aux diverses médications. Les affections blennorragiques elles-mêmes auraient bénéficié de l'inoculation de filtrats gonococciques. La lyse bactérienne par le bactériophage a permis à d'Hérelle pour la dysenterie et à Hauduroy pour la coli-bacilliose et la typhoïde de donner aux praticiens de nouvelles armes contre ces infections.

La thérapeutique anti-tuberculeuse elle-même a vu un jour nouveau avec la découverte des formes invisibles

et filtrantes. Nous avons signalé, au cours de notre étude sur la filtration du bacille tuberculeux, les essais de vaccination poursuivis par Vaudremer et par nous-même au service de Monsieur le Professeur Gosset. Nous ne reviendrons pas sur les résultats que nous avons donnés. Cependant dans les conclusions de ce travail dont le plus grand intérêt est de montrer le polymorphisme microbien, si insuffisamment soupçonné jusqu'à ce jour, nous voulons faire ressortir combien il est important, quand il s'agit d'absorption soit par voie buccale, soit par voie sous-cutanée ou intra-veineuse de n'employer les formes filtrantes des bactéries qu'avec la plus grande prudence. Nous ignorons encore tout des propriétés biologiques des granules microbiens et le peu que nous en savons nous montre combien leur pouvoir pathogène est différent, allant de la virulence la plus atténuée au pouvoir infectant le plus prononcé. C'est pourquoi nous rallions-nous entièrement aux auteurs qui ne veulent voir dans la thérapeutique vaccinale tant par filtrats de cultures que par cultures elles-mêmes, rendus avirulentes par des procédés cultureux spéciaux, que l'emploi de vaccins dont les germes ont été préalablement tués, soit par la chaleur, soit par tous autres artifices.

Le polymorphisme du bacille de Koch, sa virulence si différente, son cycle évolutif, et les formes granulaires que nous avons décrites, le pouvoir pathogène si inconstant de ces formes, la récupération de leur pouvoir infectant, nous conduisent aux conclusions d'Héricourt dans son chapitre sur la vaccination anti-tuberculeuse :

« D'autres questions se posent alors, dit-il, relatives à l'avenir de ces enfants vaccinés.

La première est celle du retour possible à la virulence des germes avirulents introduits dans l'organisme. A cette question, nulle réponse satisfaisante ne saurait être faite, car l'observation de ce qui se passe chez les animaux n'est évidemment pas valable pour l'homme, et ce qu'on sait des mutations des germes qui, saprophytes du milieu ambiant, peuvent devenir brusquement pathogènes dans certains terrains organiques, commandent toutes réserves.

Puis c'est la question de savoir comment, arrivés à l'âge adulte, les organismes vaccinés dans l'extrême enfance se comportent vis-à-vis des réinfections capables d'abolir l'allergie. Tout est possible ; et il se pourrait qu'au lieu de l'immunité qu'on pensait avoir provoquée dans les organismes vaccinés, ce fut alors une réceptivité accrue qu'on enregistra, comparable à celle des organismes vierges de toute contamination antérieure par des bacilles virulents.

Et alors ce serait la nécessité de revaccination continue dont l'oubli ou l'impossibilité laisserait la porte ouverte à de redoutables infections.

La plus grande prudence s'impose dans la solution de toutes ces questions relatives aux aptitudes morbides des terrains et la tuberculose nous a déjà réservé de telles surprises qu'on ne saurait trop se tenir sur ses gardes à son égard ».

Dans le domaine philosophique

Les expériences et documents que nous avons relatés dans ce travail comptent en dehors de la portée scientifique dont nous avons essayé de donner les principales lignes, un intérêt de philosophie biologique. Les savants n'ont pas manqué en effet de partir de ces faits expérimentaux pour étayer de nouvelles théories sur cet éternel problème que l'homme se pose si anxieusement : l'origine de la Vie.

La question avait vu naître une nouvelle hypothèse le jour où d'Hérelle avait découvert le bactériophage. Ce biologiste reprenant la théorie d'Osbornn, qui voulait voir à l'origine de la vie une bactérie, pense qu'il faut descendre d'un degré l'échelle de grandeur des êtres vivants. Pour lui le « Protobios, » initial serait un être de la taille des ultra-virus, un être ultra-filtrable, une véritable micelle albumineuse, dont les dimensions seraient inférieures à 20μ .

La notion de formes filtrantes et invisibles de bactéries visibles nous fait faire un pas de plus dans cette passionnante question.

D'abord ultra-virus (bactériophage en tête) et formes filtrantes des bactéries sont deux preuves incontestables de l'existence de la matière vivante sous un aspect différent de celui d'une cellule vivante. Si pendant un certain temps la suspicion a plané sur la vitalité du bactériophage, ses propriétés ont obligé à l'assimiler à des ultra-virus « prototypes » tels la vaccine et la rage

dont les caractères d'êtres vivants ne sont pas discutés. Le cycle évolutif d'une bactérie, où partant d'un germe déterminé on arrive à un moment donné à ne plus la voir, et au bout d'un certain temps à constater sa réapparition et sa reconstitution en un type semblable au microbe original, montre qu'à aucun moment la vie ne s'est arrêtée et que la vie — de choses connues — a continué d'être en dehors des limites de visibilité.

Si ultravirus et formes filtrantes établissent donc d'une façon ferme la compatibilité de la vie et l'invisibilité de la matière vivante, ils se trouvent en opposition quand il s'agit de savoir quel est celui qui est antérieur à l'autre.

Nous avons vu précédemment que pour d'Hérelle, la micelle albumineuse, principe de vie, serait le bactériophage, c'est-à-dire un ultra-virus. Or, les propriétés spécifiques de cette catégorie d'êtres vivants montrent qu'ils ne peuvent vivre qu'aux dépens d'un autre être vivant, leur biotropisme les oblige pour exister à parasiter une autre cellule si infiniment petite soit-elle, mais douée des caractères de la vie. Aussi Hauduroy pense-t-il que « la micelle originelle devait être semblable à une forme filtrante des bactéries visibles, cette micelle unique a pu en s'accolant à d'autres, donner les êtres plurimicellaires et de complication en complication, on a pu passer de l'être unicellulaire à l'être pluricellulaire ».

Il semble donc établi que c'est dans le domaine de l'infravisible que se trouve dans le « Protobios protobios » qui se joue de la membrane de l'ultra-filtre et de

l'objectif le plus puissant, et que la découverte et l'étude des formes filtrantes et invisibles des bactéries visibles permettront peut être un jour de faire un pas dans le mystère de la Biologie et d'entrevoir la solution du problème de l'origine de la Vie.

Vu, le Doyen, Vu, le Président de la thèse
H. ROGER, GOSSET.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLÉTY

BIBLIOGRAPHIE

Filtration

- NADAULT DE BUFFON. — *C. R. Ac. des Sc.*, 44, 474.
- ZAHN. — *Pflügers Arch.*, 2, 598, 1869.
- PASTEUR et JOUBERT. — *C. R. Ac. des Sc.*, t. LXXXIV, 900.
- MIQUEL. — *Traité des Organismes vivants dans l'atmosphère*, 1883, p. 162.
- ARMAND GAUTIER. — *C. R. Ac. sc.*, 94. 652, 1882.
- CHAMBERLAND. — *C. R. Ac. des Sc.*, 99, 247, 1884.
- GARROS et MERAN. — *Brevet français*, 214, 464, 27 juin 1891.
- ARMAND GAUTIER. — *C. R.* 117, 764, 1893.
- GRENET. — *C. R.*, 151, 941, 1910.
- GRENET SALIMBENI. — *C. R.*, 152, 916, 1911.
- J. DUCLAUX. — *Les Colloïdaux*, Gautier Villars, 1924.
- HOLDERER. — *Th. Des Science*, 1911.
- HAUDUROY. — *Journal de Physiologie et de Patho. Gen.*, t. XXV, n° 2, juin 1927.
- CALMETTE, NÈGRE et BOQUET. — *Manuel de Technique Microbiologique et Sérologique*.
- KRAMER. — Bactériol filters (*Journ. Gen. Physiol.*, Baltimor, XI, 811, 812, 1926).
- HITCHCOCK. — The size of pores in collodion membrane (*Journal Gen. of physiologie*, XI, 755, 762, 1926).
- COURS DE L'I. P., 1927.

Péripnéumonie des bovidés

NOCARD et ROUX. — *Annales de l'I. P.*, 1897.

DUJARDIN-BEAUMETZ. — *Thèse Paris*, 1900, Doin édit.

BORDET. — *Annales de l'I. P.*, 1910, t. XXIV, p. 161.

BORREL, DUJARDIN-BEAUMETZ, JEANTET, et JOUAN. — *Annales de l'I. P.*

HAUDUROY. — *1^{er} Mémoire d'Agrégation*, 1927, Masson, éditeur.

COUTIÈRE. — *Biologie Médicale*, octobre 1926.

Pneumosintes

NICOLLE (Ch.) et LEBAILLY. — *C. R. Ac. des Soc.*, 167, 1918, p. 507.

NICOLLE (Ch.) et LEBAILLY. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 33, 1919, p. 395.

DUJARRIC DE LA RIVIÈRE. — La grippe est-elle une maladie à virus filtrant ? (*C. R. Ac. des Soc.*, 21 octobre 1918, p. 606.

KRUSE. — *Münch. med. Woch.*, 1916, n° 44, p. 1228).

SELTER. — *Deut. Med. Woch.*, 1918, p. 932.

LESCHKE. — *Berl. Klin. Woch.*, 1919, p. 11.

KAMANOUCHI, SAKAKAMI et IWASHIMA. — The Infective agent in influenza (*The Lancet*, 7 juin 1919, p. 971).

OLITSKY (P. K.) et GATES (F. L.). — *Journ. exp. Med.*, 33, 1921, p. 125, 361, 373 et 713, *ibid.*, 34, 1921, 1 ; *ibid.*, 35, 1922, p. 553 et 813 ; *ibid.*, 26, 1923, p. 501 et 685 ; *ibid.*, 37, 1923, p. 303 et 471 ; (*Journal American medical Association*, 131, 1923, p. 744).

L. BOEZ. — Les microbes filtrables des voies respiratoires dans l'influenza et le coryza aigu. (*Annales de l'Institut Pasteur*, octobre 1925, t. XXXIX, p. 833).

HAUDUROY. — *Première Mémoire d'Agrégation*, 1927, Masson, éditeur.

Typhus exanthématique

BESSON. — *Technique Microbiologique*, 1274 à 1283.

COUTIÈRE — *Biologie Médicale*, octobre 1926, p. 361.

HAUDUROY. — *Thèse d'agrégation*, 1927.

FEJGNI. — Sur la bactériologie du T. E. (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, 701).

FEIGIN. — Sur les variations brusques du Prot. X. 19 survenus sous l'influence de l'agent lytique H. X. 19.

FEIGIN. — Recherches sur le typhus exanthématique expr. (*C. R. Biol. Pol.*, 21-2-24, p. 1201).

FEIGIN. — Forme filtrante de H. X. 19 et T. E. (*Biol.*, 1925, p. 1396).

FEIGIN. — Souches isolées des cobayes inoculés avec le bactériophage. Anti X. 19 (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, 1203).

FEIGIN. — Sérum de Kuczginski et variations de Protéus X. 19 obtenues à partir de Rickettsia (*C. R. Soc. Biol.*, 1926, t. II, 1208).

FEIGIN. — Sur le proteus X. X. 19 provenant de la Rickettsia pro. (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCI, octobre 1924).

KUCZGINSKI. — *Virchows. arch. fur. Path. Anat.*, t. CC, L, XXII, III, p. 355, 423, 1923.

FEIGIN. — Sur les rapports des variations de Proteus X 19 avec les cultures isolées par Kuczginski (*C. R. Soc. Biol.*, 1927, p. 339).

FEIGIN et KUCZGINSKI. — De la bactériologie du typhus exanthématique chez l'homme (*C. R. Soc. Biol.*, 1927, p. 341).

ANIGSTEIM et AMZEL. — Recherches sur l'étiologie du typhus exanthématique (*Biol.*, t. XCVI, 1927, 1500).

HAUDUROY. — *A. I. P.*, Tunis 1927.

Streptocoque

S. RAMSINE. — *Soc. Biol.*, 94, p. 1010.

PALANTE et KOUDRIAVTZEVA. — De la filtrabilité (*Soc. Biol.*, séance 7 mai 27, 1218).

HAUDUROY et LESBRE. — F. F. du strepto.

URBIN. — F. F. strep-gourmeux (*C. R. Soc. Biol.*, XCVII, 97, 1927, 1598).

S. RAMSINE. — Sur l'unité du strepto hémolytique et du bacille de Loeffler (*Biol.*, 1928, t. XCVIII, n° 13, p. 1157).

RAMSINE et GIOKOWITCH. — Transformation du streptocoque hémolytique (*Biol.*, 95. 1926, p. 952).

P. SEDAILLAN. — *Presse médicale*, 29 octobre 1927, f. 1313.

BURNET. — Strepto de sortie chez le lapin (*Biol.*, XCVIII, n° 6, 1928).

Dysentérique et typhique et para-typhique

HAUDUROY. — *Bul. Médical*, 14 mars 1925.

HAUDUROY. — Agrégation 1926.

D'HÉRELLE. — Bactériophage.

HAUDUROY. — Le bactériophage de d'Hérelle (*Le François*, 1925).

COUTIÈRE. — *La Biologie Médicale*, 1926.

Spirochètes

NICOLLE, BLAISOT et CONSEIL. — *An. de l'Inst. Pasteur*, 27, p. 204, t. XXVII, 1913.

HAUDUROY. — *Mémoire d'agrégation*, 1926.

YVES KERMORGANT. — *Progrès Médical*, 17 avril 1926 ; *Clinique*, avril 1926.

COUTIÈRE — *Biol. Médicale*, 1926.

Bacille tuberculeux

- I. FONTES. — *Mem. Inst. Oswaldo*, Cruz, 1910.
II. PHILIBERT *Bull. Soc. ét. Ruber.*, N. 1. décembre 1912.
III. VAUDREMER et HAUDUROY. — *Soc. de Biol.*, t. XCIV, 22-12 23.
IV. GESSARD et VAUDREMER. — *Soc. de Biol.*, 4-11 22.
V. BEZANÇON et HAUDUROY. — *Sec. d'ét. scient. de l'Œuvre de la Tuber*, 12-1-24. *Revue de la tuberculose*, 1924, n° 2, p. 215.
VI. VAUDREMER. — *C. R. Biol.*, t. XCIV, 9-6-23.
VIII. VAUDREMER. — *Paris médical*, n° 1, 1924.
VII. VALTIS. — *C. R. Bio.*, t. XC, 3-5-24; *Ann. de l'Inst.*, juin 1924.
IX. ARLOING et DUFOURT. — *C. R. Biol.*, t. XCHI, 15-6-25, p. 165.
X. FONTES. — *Mem. Ins. Oswaldo*, Cruz, 1910.
XI. VALTIS. — *C. R. Biol.*, t. XC, 12-1-24.
XII. DURAND et VAUDREMER. — *C. R. Biol.*, t. XC, p. 916, 5 4-24.
XIII. CARLO VERDINA. — *Giornale della R. Acc. de Med. di Torino*, t. LXXVIII, p. 348, 1924.
XIV. VANNUCI. — *Lo Sperimentale*, t. LXXVIII, fasc. 3, 1924.
DURAND. — *Acad. de Med.*, 19-1-26, p. 75.
XV. DURAND et CHARCHANSKI. — *Soc. de Biol.*, t. XCHI, 18-7-26, p. 499.
XVII. DEMETRE et JONNESCO. — *Soc. de Bucarest*, février 1927.
XVIII. T. VEBER. — *Soc de Biol.*, XCIV, 9 1-26, p. 8.
XIX. NELIS. — *Soc. de Biol.*, XCVI, 9-1-27, p. 21.
XX. NASTA. — *Soc de Biol.*, XCVI, 5 3-27, p. 511.
XXI. IONESCO ET BONCIU. — *Soc. de Bio.*, XCVIII, 12-1-28, p. 466.
XXII. MALARTRE. — *Th. de Lyon*, 1927.
XXIII. BONCIU ET IONESCO. — *Soc. de Biol.*, XCVIII, 17-1-28, p. 464.

XXV. DE BONIS. — Tornade accademiche della Scuola Libera Med. Napoletana, Séance du 17 février 1926. *Riforma Médica*, n° 10, 1926.

XXVI. Mlle TOGOUNOFF. — *Soc. de Bio.*, XCVII, 5-7-27, p. 349, *Soc. de Bio.*, XCVII, 8-27, p. 628.

XXVII. VAN BENEDEN. — *Bruxelles Médical*, n° 47, 18-9 27, p. 1493.

XXVIII. LORENZO BOSCO. — *Gior. di batte. e immunologia*, n° 6, 6-27, p. 363.

XXIX. SALADINO CRAMAROSA. — *Rivista di patologia e clinica della tuberculosis*, t. XVI, n° 3, 9-27, p. 323.

XXX. PARTEARROYO. — *Arch. de med. el cir y espeialidades*, t. XXVII, n° 3, 7-27, p. 61.

XXXI. LYDIA RABINOWITSCH KEMPNER. — *Deutsche med. Woch.*, n° 49, 1927.

XXXII. RALPH. R MELLON ET ELIJ JOST. — *Proceedings of the Soc. for. (Ex. Biol. and Med.)*, XXIV, n° 8, 5-27, p. 743.

XXXIII. BOCCHINI. — *Rinascenza Med.*, t. IV, n° 19, 10-27.

XXXIV. SYLVIO TORRES ET TAYLOR MELLO. — *Revista di Zootechnia e Veterinaria*, XIII, 1927, n° 23, p. 123.

XXXV. — ARLOING, DUFOUT. MALARTRE. — *Bul. Ac. Ned.* 16 2-26. *Paris Med.* 1-26, p. 75. *Soc. Biol.*, t. XCIV, 21-12-23, p. 46. *Bull. Ac. Med.*, t. XCVI, 31-11-26, p. 301.

XXXVII. ARLOING ET DUFOUT. — *Soc. Biol.* t. XCV, 13-11-26, p. 1063.

XXXVIII. DURAND, OURY, BENDA. — *Soc. Biol.*, t. XCV, 12-27, p. 1545.

XXXIX. VALTIS. — *Soc. Biol.*, t. XCV, 1926, p. 1414.

XL. VALTIS. — *Soc. Biol.*, t. XCVII, 9-7-27, p. 477.

XLI. VALTIS. — *Soc. Biol.*, t. XCVII, 9-7-27, p. 478; *Ac. des Sc.*, 19 10 23, p. 491.

XLII. VALTIS, NÈGRE, BOQUET, Mlle CERTONCINY. — *Soc. Biol.*, t. XCVII, 17 12-27.

XLIII. VALTIS. — *Presse Med.*, 28-1-28, n° 8.

XLIV. ARLOING et DUFOUT. — *Soc. Biol.*, t. XCVIII, 19-3-28.

XLV. ARLOING et DUFOURT. — *Soc. Biol.*, t. XCVIII, 17 4-28, p. 956.

XLVI. Mlle TOGOUNOFF. — *Soc. Biol.*, t. XCVII, p. 547 ; *Soc. Biol.*, t. XCVII, p. 626.

XLVII. — DURAND, KOURILSKY, BENDA. — *Soc. Biol.*, t. XIC, 15-6-28.

XLVIII. SWEANY. — *Amer. Rev. Of Tub.*, t. XVII, 1-28, p. 77, 83.

XLIX. ARLOING. — *Soc. de Biol.*, XCVI, 1927, p. 433

L. ARLOING. — *Soc. de Biol.* XCVI, 1927, p. 41.

LI. VALTIS — *Soc. de Biol.*, XCIV, 1926, p. 237.

LII. ARLOING et DUFOURT. — *Soc. de Biol.*, t. XCVI, 20-12-26, p. 41.

LIII. CLUZET, CHEVALLIER, KOFMAN. — *Soc. de Biol.*, t. XCVI, 20-12-26, p. 39.

LIV. J. PARAF. — *Soc. de Biol.*, t. XCH, 20-3-25, p. 792.

LV. BOQUET, NÈGRE, VALTIS. — *Soc. de Biol.*, t. XCIV, 30 1-26, p. 235.

LVI. ARLOING et DUFOURT. — *Soc. de Biol.*, t. XCV, 1925, pp. 13-63.

LVII. POTTER et RUBEANO. — *Soc. de Biol.*, t. XCVI, 1927, p. 1237.

LVIII. POTTER et RUBEANO. — *Soc. de Biol.*, t. XCVIII, 1928, p. 685.

LIX. VAUDREMER. — *Le Bacille tuberculeux Presses Universitaires*, 1927.

LX. ARLOING, THEVENOT, DUFOURT, MALARTRE. — *Bul. Acad. Méd.*, t. XCVIII, 11-10-27, p. 208.

LXI. VAUDREMER — *Biol.*, juin 1923 ; *Congrès français de Méd. de Bordeaux*, sept. 23 ; *Paris Médical*, n° 1, 1924 ; Congrès International de la Tuberculose, Lausanne, 26.

LXII. VAUDREMER. — *Presse Méd.* 8-10-24.

LXIII. VAUDREMER, PAULIN. — *Annales Clin-Chir.*, Salpêtrière, Masson, 1926.

LXIV. PAULIN. — *Soc. Méd. Chir.*, Saint-Germain-en-Laye, 1937.

LXV. VAUDREMER, PUTHOMME, PAULIN — *Acad. Méd.*, 8-2-27.

LXVI. VAN DER VELT. — *Bul. Méd.*, 10-27.

LXVII. VAUDREMER. — *Soc. Biol.*, t. XCIV, 1926, p. 425.

LXVII. POPPER et RAILEANO. — *Soc. Biol.*, t. XCVI, 3-27, p. 237.

LXIX. POPPER, SLOBOSIANO, RAILEANO. — *Soc. Biol.*, t. XCVI, 3-27, p. 235.

LXX. NELIS. — *Biol.*, XCVII, 23-7-27.

LXXI. POPPER et RAILEANO. — *Soc. Biol.*, XCVII, 1927, p. 986.

LXXII. POPPER. — *Soc. Biol.*, t. XCVIII, p. 1073.

LXXIII. STERLING OKUNIEWSKI. — *Soc. Biol.*, t. XCVIII, 1928, p. 71.

LXXIV. CALMETTE, VALTIS, NÈGRE et BOQUET. — *Ac. des Soc.*, 19 octobre 1925, t. CLXXXI, p. 491.

LXXV. ARLOING, DUFOURT. — *Ac. des Sc.*, CLXXXI, 2 novembre 1925.

LXXVI. ARLOING, DUFOURT. — *Ac. des Méd.*, 20 novembre 1926.

LXXVII. CALMETTE, VALTIS, LACOMME. — *C. R. Ac. des Sc.*, 15 novembre 1926, t. CLXXXIII, p. 835.

LXXIX. LÉON BERNARD. — Tuberculose et Hérité, (*Presse Médicale*), 24 mars 1928 n° 24.

LXXX. CALMETTE. — *La vaccination préventive contre la tuberculose*, Masson, 1927.

LXXXI. PLA-Y-ARMENGOL. — *Bruxelles Médical*, 1928.

LXXXII. CALMETTE. — *Acad. des Sc.*, juin 1928.

LXXXIII. DEBRÉ-LELONG-BONNET. — *Soc. de Biol.*, 4 déc. 1926, t. XCV, p. 1425.

Considérations générales

Ch. NICOLLE. — Sur la nature des virus invisibles, (*Arch. de l'Institut Pasteur*) Tunis, n° 1, 1925.

HEYDLEY. — *Bull. Inst. Past.*, 15 oct. 1917, 1031

Ch NICOLLE — Sur les virus invisibles (*Ar. I. P.*, 1925), t. XIV, n° 1, p. 108.

HAUDUROY — Formes filtrantes des bactéries et ultra virus, (*Biol.* 1926), t. II, p. 1523.

HAUDUROY. — Technique de culture des formes invisibles (*C. R. Biol.*,) t. XCVII, p. 1392, 1927.

VAUDREMER. — Réflexions sur la filtration des bactéries (*Soc. de path. comparée*), 8 février 1927.

HAUDUROY. — *Troisième Mémoire d'Agrégation.*

D'HÉRICOURT. — Le terrain dans les maladies (*Bibliothèque Philosophique*, 1925).

GRASSET. — Aux confins de la Science (*Bibliothèque Philo-sophique*).

APERT. -- L'hérédité morbide, (*Biblio. Philo*, 1920).

LECLERC DU SABLON. — Les incertitudes de la biologie (*Bi-blio. Phil.*, 1920).

GRASSET. — La Biologie humaine, (*Biblio. Phil.*, 1926, Flam-marion.

1928. Saint-Amand (Cher). — Imprimerie A. CLERC.

